

天然防蚊樹種－柳杉

文、圖 ■ 鄭森松 ■ 國立台灣大學實驗林管理處助理研究員

張上鎮 ■ 國立台灣大學森林環境暨資源學系教授（通訊作者）

一、前言

台灣位處高溫多濕的亞熱帶，適合病媒昆蟲孳生繁殖。在這些病媒昆蟲中，以蚊子（Mosquito）對人類的危害最為嚴重，從酷寒的極地到赤熱的非洲，幾乎都有牠們的蹤影。蚊子是公共衛生的第一號有害昆蟲，會傳播多種疾病，如瘧疾、絲蟲病、黃熱病、登革熱及日本腦炎等，輕者導致人生病，嚴重則會致死。目前世界上已紀錄之蚊蟲約有3,000種，我國已知的蚊蟲種類近350種，其中約有50種瘧蚊。

蚊蟲傳染的疾病主要發生在熱帶地區，根據世界衛生組織的統計，熱帶及亞熱帶地區有100個以上的國家流行登革熱，25億人受傳染的威脅，每年有千萬以上的人感染，有50萬人左右因登革出血熱或休克症候群而住院治療，其中約有2萬4千人因此喪生。由於台灣地區適合病媒昆蟲孳生繁殖，因此登革熱為近10多年來危害最嚴重的蟲媒病，而埃及斑蚊（*Aedes aegypti*）與白線斑蚊（*Aedes albopictus*）則為台灣地區登革熱之主要病媒蚊。

防治病媒蚊的方法很多，其中最重要且

最有效的方法即是使用環境衛生用藥，但這些環境衛生用藥種類雖多，卻多為高毒性之合成殺蟲劑，長期使用後，除了會對吾人健康及環境品質造成嚴重傷害外，亦容易使病媒蚊產生抗藥性而失去殺蟲劑之效用，加上環保意識的覺醒，故國外已有許多學者積極從事天然殺蟲劑的研究與開發，但國內相關的研究報告較少，直至近年才由筆者開始進行這方面的研究，目前已獲得一些成果，以下僅就人工造林樹種－柳杉（*Cryptomeria japonica*）－防蚊成分之開發與利用作一介紹，以供有興趣人士與業界參考。

二、柳杉之特性介紹

柳杉隸屬松柏目（Coniferae）杉科（Taxodiaceae）柳杉屬，樹幹通直，高可達40 m，日本習稱為Japanese cedar或Sugi，為中國及日本的特產。台灣於1906年首度引入，之後又多次從日本引進，曾經是全島中海拔500~1,800 m主要的造林樹種之一，亦是台灣主要杉科植物之一。根據行政院農委會林務局第三次森林資源調查統計，全國柳杉造林面積共41,132 ha，若依林型面積統計，人



工針葉林中柳杉的比例占了22.75%。柳杉木材除了材質佳，可供作建築、支柱、家具及車輛等用途外，亦有良好之生物活性，如耐腐朽性、抗植物病原菌、抗細菌、抗白蟻、抗衣魚、抗室塵蟎活性、保肝、降血脂、抑制雄性禿頭、抑制超氧歧化酶、細胞毒殺等。然而，柳杉品系非常複雜，不僅心材顏色差異很大（如紅色、黃色、黑色等），其成分亦不同，以致其生物活性有所差異。關於柳杉抽出物最早的研究，始於1916年Uchida對柳杉葉子精油的分析，迄今已90餘年，經過眾多學者研究，分析其葉子、材部、樹皮、花、毬果等部位，共獲得300多種化合物，包括：單萜類（Monoterpenes）、倍半萜類（Sesquiterpenes）、二萜類（Diterpenes）、木酚素（Lignans）、類木酚素（Norlignans）、黃酮類（Flavonoids）、類固醇（Steroids）及其他種類等，在台灣產樹木中可算是研究相當詳細且成果豐富的樹種之一。



▲溪頭柳杉林。

三、柳杉中天然殺蚊成分

近年來，已有許多報告指出林木精油或抽出物具有良好之抗病媒蚊幼蟲效果，因此，我們評估柳杉各部位精油之抗病媒蚊幼蟲活性，所使用病媒蚊之種類為埃及斑蚊和白線斑蚊第四齡期幼蟲（4th Instar mosquito larvae），試驗方法為將精油或抽出成分溶於二甲基砒（DMSO）後，加入25 mL之蒸餾水中，配製成不同濃度之樣品，每一樣品瓶各置入10隻第四齡期埃及斑蚊或白線斑蚊幼蟲，將含有精油或抽出成分及病媒蚊幼蟲之樣品瓶置於室溫環境中，記錄病媒蚊幼蟲於24 h後的死亡數目，並計算致死率，再由不同濃度之精油成分對病媒蚊幼蟲致死率之關係式，求得各精油成分的半數致死濃度（Lethal concentration 50%, LC₅₀），以及病媒蚊幼蟲致死率為90%時所需之精油濃度數值（LC₉₀），且以商業殺蚊子幼蟲劑陶斯松（Chlorpyrifos）作為對照組。

試驗結果發現，葉子精油抑制埃及斑蚊幼蟲和白線斑蚊幼蟲生長的效果最好，其半數致死濃度分別為59.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ （LC₉₀ = 130.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）和42.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ （LC₉₀ = 80.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）（表1），其次為材部精油，其LC₅₀值分別為89.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和68.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，而枝條和樹皮精油則最差，由以上結果得知，葉子精油對埃及斑蚊和白線斑蚊幼蟲有很好的毒殺效果。

另外，我們也評估不同樹齡柳杉葉子精油之抗病媒蚊幼蟲活性，結果顯示以58年生葉子精油對埃及斑蚊幼蟲和白線斑蚊幼蟲毒

表1 柳杉4部位精油對埃及斑蚊幼蟲和白線斑蚊幼蟲經24 h試驗後之有效致死濃度 (LC, $\mu\text{g}/\text{mL}$)

精油	埃及斑蚊		白線斑蚊	
	LC ₅₀	LC ₉₀	LC ₅₀	LC ₉₀
材部	89.6	199.0	68.8	168.2
枝條	202.2	336.9	114.0	324.5
樹皮	248.0	393.8	212.2	365.0
葉子	59.6	130.2	42.7	80.4
陶斯松*	1.1	2.4	1.1	2.3

*對照組

殺效果最強，其半數致死濃度分別為28.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (LC₉₀ = 111.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和51.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (LC₉₀ = 178.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，其次是42年生葉子精油 (對埃及斑蚊幼蟲LC₅₀值 = 39.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；對白線斑蚊幼蟲LC₅₀值 = 57.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，而26年生葉子精油的效果最差，對埃及斑蚊幼蟲LC₅₀值 = 56.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；對白線斑蚊幼蟲LC₅₀值 = 56.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，由此結果得知，柳杉的樹齡愈大，其葉子精油對抗病媒蚊幼蟲的效果愈好。

進一步比較柳杉葉子精油11個化合物，包括6個單萜類碳氫化合物 (α -Pinene、3-Carene、 β -Myrcene、Limonene、 α -Terpinene、 γ -Terpinene)、2個含氧單萜類化合物 ((-)-Terpinen-4-ol、Terpinolene)、2個含氧倍半萜類化合物 (β -Eudesmol、 β -Elemol) 及1個二萜類碳氫化合物 (16-Kaurene) 對2種病媒蚊幼蟲毒殺之效果，試驗證實 α -Terpinene 對埃及斑蚊

表2 柳杉葉子精油中11個成分對埃及斑蚊幼蟲和白線斑蚊幼蟲經24 h試驗後之LC₅₀和LC₉₀值 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

成分	埃及斑蚊		白線斑蚊	
	LC ₅₀	LC ₉₀	LC ₅₀	LC ₉₀
α -Pinene	79.1	>100.0	74.0	>100.0
3-Carene	25.3	69.4	24.1	62.3
β -Myrcene	35.8	>100.0	27.0	75.4
Limonene	19.4	50.4	15.0	34.0
α -Terpinene	14.7	39.5	25.2	53.2
γ -Terpinene	26.8	68.7	22.8	57.4
(-)-Terpinen-4-ol	>100.0	>100.0	>100.0	>100.0
Terpinolene	32.1	83.6	22.0	55.5
β -Eudesmol	>100.0	>100.0	>100.0	>100.0
β -Elemol	>100.0	>100.0	>100.0	>100.0
16-Kaurene	57.0	95.0	56.5	92.5
陶斯松*	1.3	3.4	1.1	2.3

*對照組

幼蟲之抑制效果最好 (LC₅₀ = 14.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；LC₉₀ = 39.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (表2)；至於抑制白線斑蚊幼蟲之效果，則以Limonene最好 (LC₅₀ = 15.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；LC₉₀ = 34.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。若將Limonene、 γ -Terpinene、Terpinolene、 β -Myrcene、3-Carene、 α -Terpinene 6種化合物之LC₅₀值與柳杉葉子精油的結果相比，發現6種單萜類化合物，對2種病媒蚊幼蟲在試驗24 h後的LC₅₀值都比柳杉葉子精油好，顯示柳杉葉子精油抗病媒蚊幼蟲活性，可能是由此6種單萜類化合物加成作用造成的。



另外，為了瞭解柳杉各部位甲醇抽出物之抗病媒蚊幼蟲活性，將柳杉各部位甲醇抽出物溶解於DMSO中進行抗病媒蚊幼蟲試驗，經過24 h試驗後，心材、樹皮及葉子甲醇抽出物對埃及斑蚊幼蟲和白線斑蚊幼蟲之 LC_{50} 值均超過 $400 \mu\text{g}/\text{mL}$ ，顯示這3個部位對埃及斑蚊幼蟲和白線斑蚊幼蟲並沒有抑制效果。至於邊材甲醇抽出物對埃及斑蚊幼蟲和白線斑蚊幼蟲之 LC_{50} 值，分別為 $11.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $15.8 \mu\text{g}/\text{mL}$ （表3），顯示柳杉邊材甲醇抽出物具有極強的抗病媒蚊幼蟲活性。進一步將邊材甲醇抽出物分為正己烷可溶部、氯仿可溶部、乙酸乙酯可溶部及甲醇可溶部進行試驗，其中以正己烷可溶部的效果最佳，對埃及斑蚊幼蟲和白線斑蚊幼蟲的 LC_{50} 值，分別為 $2.4 \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $3.3 \mu\text{g}/\text{mL}$ ，顯示正己烷可溶部抗病媒蚊幼蟲的活性比其他3個可溶部還要高。正己烷可溶部中的11個次分離部（SH1~SH11）中，以SH3次分離部能有效的抑制埃及斑蚊和白線斑蚊幼蟲生長，其 LC_{50} 值分別為 $0.2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $0.4 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。其中又以SH3次分離部中分離鑑

表3 柳杉邊材甲醇抽出物及成分對埃及斑蚊幼蟲和白線斑蚊幼蟲經24 h試驗後之半數致死濃度（ LC_{50} ）

試樣	LC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	
	埃及斑蚊	白線斑蚊
甲醇抽出物	11.5	15.8
正己烷可溶部	2.4	3.3
Tectoquinone	3.6	2.8
陶斯松*	1.3	1.1

*對照組

定出的Tectoquinone對2種病媒蚊幼蟲之毒殺效果最強，幾乎可媲美商業用的陶斯松。進一步比較Tectoquinone衍生物之抗病媒蚊幼蟲活性，仍以C-2位置上接甲基（ $-\text{CH}_3$ ）之Tectoquinone毒殺效果最佳。綜合上述結果可知，柳杉葉子精油或邊材甲醇抽出物和Tectoquinone極具潛力開發為天然殺蟲劑。

四、柳杉中天然忌避成分

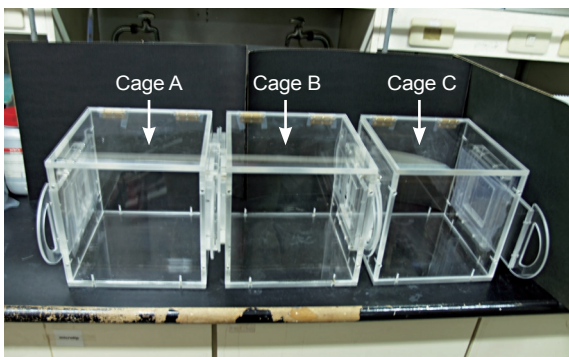
個人防禦法為病媒防治中的一環，其中個人防禦法又可分為物理防禦法與化學防禦法。物理防禦法包括蚊帳、紗門及紗窗的使用，是一種簡單又有效的方法，然而，若是使用不當或破損，則無實效。化學防禦法是對蚊蟲忌避較積極、有效之方式。某些化學藥物對人畜無害，故可做為忌避劑（Repellent），使用方法為塗布於皮膚或衣服，以防蚊蟲之侵襲，即利用化學忌避劑，直接對蚊蟲之觸覺器官或化學感受器作用，而產生忌離之效果。使用忌避劑不僅可以避免節肢動物的騷擾或叮咬，適當地使用亦可減少疾病的散播。DEET（Dimethyl Toluamide）為一種常用的市售忌避劑成分，塗抹後，可維持6 h或更久。然而，近來的報告指出它會對塑膠類製品及合成橡膠產生傷害，且會影響中樞神經系統，可能增加發生蕁麻疹和皮膚炎的機遇，並有潛在引發腦炎的毒性。此外，有些學者認為DEET會對環境造成傷害，因為在正常環境的pH值下，DEET無法水解，故降解不完全，所以可能普遍存在於水中的生態系統，至於造成的影響，目前還不清

楚。一般而言，植物二級代謝物對環境之毒性較低，能快速降解，因此，為消除合成化合物對人類及環境的負面影響，尋求天然無毒害的殺蟲劑已是當前的研究趨勢。

因此，筆者等人曾利用忌避裝置進行蚊蟲忌避試驗，以蚊蟲忌避率來評估柳杉4個部位精油之活性，使用病媒蚊之種類為埃及斑蚊和白線斑蚊，7~12日齡未吸血成蟲。試驗方法將精油以乙醇溶劑溶解後，滴在濾紙上，待溶劑揮發後置入忌避裝置中。A試驗箱（Cage A）為對照組，濾紙上只滴乙醇；C試驗箱（Cage C）為試驗組，濾紙上滴有精油。每次試驗取50隻未吸血成蟲置入B試驗箱（Cage B），將忌避裝置與蚊蟲放置於恆溫恆濕之環境中，每10 min記錄一次病媒蚊於試驗箱之數目，連續1 h，計算忌避率（Repellency, %），評估其忌避效果。試驗重複數為5。其計算公式如下所示：

$$\text{忌避率}(\%) = \{ 1 - [\text{試驗組之蚊蟲數} / (\text{試驗組之蚊蟲數} + \text{對照組之蚊蟲數})] \} \times 100$$

比較4種不同部位之精油對埃及斑蚊之忌避效果，結果發現當精油使用劑量為



▲蚊蟲忌避裝置。

1.92 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ，忌避20 min後，葉子精油對埃及斑蚊具有最佳之活性，忌避率可以達到81%，其次則為樹皮精油（忌避率=73%）和枝條精油（忌避率=72%），而材部精油的效果最差，忌避率只有58%，即使試驗時間延長至60 min，葉子精油對埃及斑蚊的活性依然最佳（忌避率=72%）；若將柳杉精油與市售之忌避成分DEET相比較，發現忌避20 min後，DEET忌避率只有55%，若試驗時間延長至60 min，其忌避效果則為62%，顯示柳杉葉子精油確實具有良好之忌避效果。至於白線斑蚊方面，當使用劑量為1.92 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ，忌避20 min後，以葉子精油和枝條精油之效果最佳，忌避率皆可達71%，其次是材部精油和樹皮精油，忌避率皆為63%，即使試驗時間延長至60 min，葉子精油對白線斑蚊的活性依然最佳（忌避率=73%）；而DEET在忌避20 min後，對白線斑蚊之忌避率為63%，當試驗時間延長至60 min，其忌避效果為60%，顯示柳杉葉子精油對埃及斑蚊及白線斑蚊之忌避效果，較市售之忌避成分DEET良好。

由上述結果發現，柳杉葉子精油對埃及斑蚊與白線斑蚊具有最佳忌避活性，為了解忌避活性與揮發成分間的關係，因此利用SPME（Solid-phase microextraction）進行精油揮發成分之動態分析，使用之萃取纖維為DVB/CAR/PDMS（Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane）。試驗結果得知，開始試驗時（忌避時間0 min），空氣中精油之主要揮發成分為3-Carene、 α -Terpinene、Limonene、 γ -Terpinene與Terpinolene；當忌



避時間延長為20 min、40 min及60 min，空氣中精油之主要揮發成分則為（-）-Terpinen-4-ol，由此顯示葉子精油中之（-）-Terpinen-4-ol為主要之忌避成分。

另外，進一步評估柳杉葉子精油6個主要揮發成分，對埃及斑蚊及白線斑蚊之忌避效果，由埃及斑蚊忌避之結果得知，當使用劑量為 $1.92 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ ，忌避20 min後，6種揮發成分中，以（-）-Terpinen-4-ol之忌避效果最好；忌避率為96%，Terpinolene之忌避效果最差，忌避率為57%。進一步與葉子精油（忌避率=81%）相比，發現（-）-Terpinen-4-ol對埃及斑蚊確實具有良好活性，即使試驗時間延長至60 min，（-）-Terpinen-4-ol對埃及斑蚊的活性依然最佳（忌避率=92%）。至於白線斑蚊方面，同樣以（-）-Terpinen-4-ol之效果最好，忌避率可以達到90%，而以 α -Terpinene忌避效果最差，忌避率僅有57%，進一步與葉子精油（忌避率=71%）相比，發現3-Carene（忌避率=71%）、Limonene（忌避率=73%）與（-）-Terpinen-4-ol之忌避效果皆比葉子精油良好，若試驗時間延長至60 min，仍以（-）-Terpinen-4-ol對白線斑蚊的活性最佳（忌避率=82%）。由上述結果可知（-）-Terpinen-4-ol對埃及斑蚊及白線斑蚊具有極佳之活性，故葉子精油之忌避效果應以（-）-Terpinen-4-ol為主要關鍵成分。

五、結語

隨著科技進步，不久的將來，環境用藥

成分應可來自於樹葉、枝條，甚至是組織或細胞的培養液。更甚者，我們都知道林木是神奇的生化學家，只要善加利用分生技術調控此大自然的「生物反應器（Bioreactor）」，就可以製造出我們想要的化合物及產品。如此，我們便可在環境保護與資源永續利用的前提下，針對這些柳杉抽出成分進一步研究與開發成天然殺蟲劑，並應用於病媒蚊防治，相信必能增加柳杉之經濟價值，以及減少病媒蚊對人類帶來的危害，亦可降低化學合成殺蟲劑對環境之傷害，發揮林木多目標利用的功效，造福人類，為林產物利用開創新契機。♻️

* 謝誌：感謝行政院農業委員會林務局計畫經費補助。

參考文獻（請逕洽作者）



（圖片／高遠文化 攝影／游忠霖）