

害蟲抗藥性測試標準方法(04) -- 蔬菜蚜蟲抗藥性之監測

農藥化學組

蚜蟲種類繁多，生活史短，可孤雌生殖，於田間發生頻繁。這類昆蟲以口器刺吸植物組織中之汁液，不但直接為害寄主植物，其分泌之蜜露尚會造成煤煙病(sooty mold)影響光合作用，並可傳播多種植物毒素病，造成寄主植物生長受阻，目前其防治手段以噴灑殺蟲劑為主。由於蔬菜是國人日常食用之重要作物，又多以短作為主，抗藥性影響農藥的效果與安全問題更值得重視。危害蔬菜的蚜蟲種類中，以偽菜蚜(*Lipaphis erysimi*)、桃蚜(*Myzus persicae*)、棉蚜(*Aphis gossypii*)及黑豆蚜(*Aphis craccivora*)最為嚴重。其中桃蚜及棉蚜為雜食性種類，前者以十字花科為害最為嚴重，後者則以葫蘆科及茄科較為嚴重。偽菜蚜專食十字花科種類，黑豆蚜則以部分豆科為主，這些蚜蟲雖終年可見，不過主要則以秋、冬兩季為害最嚴重，一旦環境適宜，族群將增長快速，短時間即造成寄主植物嚴重損失。因蔬菜蚜蟲對殺蟲劑之感受性變化將直接影響其防治效力，有必要對主要栽培區進行推薦藥劑感受性之監測，調查各地蔬菜蚜蟲對目前防治用藥劑之感受性，藉由防治效力的評估，供給改進防治策略時之參據。

1. 方法概要

自各地區田間採取受害植株上之無翅型雌成蚜為材料，攜回室內以其寄主植物飼育繁殖，收集第一代無翅型雌成蟲供藥劑實驗用。以浸潤不同濃度藥液形成乾膜之寄主植物餵食蚜蟲，24小時後觀察蚜蟲死亡情形，由不同濃度殺蟲劑所造成之死亡率計算出半數致死濃度(LC₅₀)，供做比較抗藥性之基準。

2. 器材與設備

2.1 採集及飼養

剪刀	田間採集被害葉用。
尼龍網袋	60(L)cm × 20(W)cm × 16(H)cm，網目60mesh以上，田間採集時放置被害葉，收集蚜蟲用。
鐵架	40(L)cm × 20(W)cm × 15(H)cm，放置植物供蚜蟲繁殖用。

毛筆	小楷，接蟲用。
紙巾	將蚜蟲放在紙巾上以利觀察判斷是否死亡。
布丁杯	種植植物用，9.5(ID)cm × 4.5(H)cm。
蛭石	使用2號蛭石種植植物。
芥藍菜苗	利用2號蛭石種植芥藍種子 (<i>Brassica oleracea</i> Alboglabru group) 於布丁杯內，種植十天後高約為7cm供做桃蚜、偽菜蚜食物。
胡瓜苗	胡瓜 (<i>Cucumis sativus</i>) 種子預先泡水，待種皮軟化後再利用2號蛭石種植於布丁杯內，種植十天後高約為7 cm供做棉蚜食物。
紅豆苗	紅豆 (<i>Phaseolus angularis</i>) 種子預先泡水，待種皮軟化後再利用2號蛭石種植於布丁杯內，種植七天後高約為10 cm，供做黑豆蚜食物。

2.2 生物檢定

供試藥劑	經標定含量之成品農藥，應冷藏儲存於4 或以下。
溶劑	展著劑 (Triton X-100) 0.01% (w/v) 加入丙酮及純水 (比率為1:1) 混合的溶液。稀釋農藥用，使藥液能均勻分散於葉片上。
燒杯	100 ml，配製藥液用。
鋁箔紙	蓋住配製藥液用，以防操作期間藥液蒸發。
玻棒	攪拌藥液用。
硬鑷子	11 cm長，浸藥處理時夾菜葉、苗用。
計時器	浸藥處理計時用。
玻璃瓶	將實驗用苗插入1(ID)cm × 3(H)cm，玻璃瓶內，玻璃瓶內裝水1 ml，以防苗枯死。(棉蚜、黑豆蚜使用)
水	純水，供苗吸水保鮮。
石臘膜	預切為3(L)cm × 3(W)cm，用以封住玻璃瓶，防止水份流出。
瓶蓋	3(ID)cm，邊緣磨利，切割葉片用。(桃蚜、偽菜蚜使用)。
試管架	葉片、苗浸藥液處理後，置於其上晾乾用。
長鑷子	25 cm長，夾葉、苗進入指形瓶內。

泡棉	3(L)cm × 3(W)cm × 4(H)cm , 防止葉片枯萎作用。
指形瓶	3(ID) × 10(H)cm , 放置浸藥過之小苗或葉片供試驗蚜蟲用。
毛筆	小楷, 挑取蚜蟲用。
紙巾	墊在桌上以便接蟲。
尼龍網	7cm × 7cm , 網目60 mesh以上, 蓋住指形瓶, 防止蚜蟲跑出指形瓶。
橡皮筋	固定尼龍網。
鐵槽	56(L)cm × 10(W)cm × 4(H)cm放置指形瓶用。
甘藍葉	利用泥碳土種植甘藍 (<i>Brassica oleracea Capitata group</i>) 於塑膠盆內20(ID)cm × 18(H)cm , 種植二個月後, 採取葉片以瓶蓋切成直徑3cm之圓片浸藥餵食用。
胡瓜苗	選8 cm 以下苗或將苗剪至8 cm插入玻璃瓶中, 瓶口利用石臘膜封住浸藥餵食用。
紅豆苗	選8 cm 以下苗或將苗剪至8 cm 插入玻璃瓶中, 瓶口利用石臘膜封住浸藥餵食用。

3. 供試昆蟲

3.1 採集

自田間剪取蚜蟲被害葉集中於網袋中, 袋中放置少許寄主植物葉片供其棲息取食。每測試一種藥劑有效成分約需要第一代子代蚜蟲200隻。採集時應先推估取得足量之蟲數。(注意: 棉蚜繁殖能力較差, 應採集較多蟲數)。

3.2 鑑定

從田間剪取被害葉帶回實驗室後, 進行鑑定工作, 留下實驗所需要的棉蚜、黑豆蚜、偽菜蚜、桃蚜各別繁殖。鑑定方法: 將蚜蟲浸入75% 酒精中, 再放入顯微鏡下, 利用外型、觸角、背板、顏色、毛數來判定品種。鑑定於瓜及豆類作物所採集之棉蚜、黑豆蚜、桃蚜等詳細方法見附錄一。

3.3 飼養

採集含蚜蟲之寄主植物帶回實驗室後, 將寄主植物立刻插水防止葉片枯萎, 再利用毛筆接取雌成蚜置於適當之培育苗上, 供取食繁殖。

一棵培育苗大約接5~8隻成蟲, 密度不可太高, 否則次代易為有翅型。將接有成蟲之培育苗置 21 ± 1 , 70% RH, 12D:12L生長箱內,

隔日再利用毛筆將成蟲接到新的培育苗繼續繁殖，子代若蟲則繼續培養至適當蟲齡供實驗用。

3.4 測試用蟲之供應

繁殖第一代之成蟲，每處理濃度之蟲數至少要達30隻。

4. 供試藥劑

各藥劑以純水稀釋為10 mg/ml後，再以加入Triton X-100，0.01%(w/v)的丙酮及純水(比率為1:1)混合的溶液中稀釋。先進行前驅實驗(參考害蟲抗藥性測試標準方法(01)之附錄三)來決定起始濃度(見附錄二)，再序列稀釋5次，以此6個序列濃度供試。如選用的最高濃度所造成之死亡率未達80%，則加入起始藥液之濃度後重做。若選用之最低劑量所造成之死亡率大於15%時，再增加一個序列稀釋濃度後重做。

5. 測試方法

5.1 藥膜的處理

5.1.1 桃蚜及偽菜蚜

測試時使用甘藍葉片，各濃度供試藥劑盛於100 ml的燒杯內，將甘藍葉片以瓶蓋切割為徑3 cm之圓片，再將切好之圓片以硬鑷子夾住浸入藥液處理5秒，處理後之葉片，置於試管架上晾乾。變換不同濃度之藥液時，應更換鑷子否則應將鑷子加以清洗，且處理之順序應以由低濃度到高濃度為佳，以避免處理間之藥液污染。(注意：浸藥前藥液應先以玻棒攪拌均勻)。

5.1.2 棉蚜及黑豆蚜

測試時分別使用胡瓜苗、紅豆苗，各濃度供試藥劑盛於藥杯內，以硬鑷子夾住苗浸入藥液處理5秒，處理後之小苗，置於試管架上晾乾。變換不同濃度之藥液時，應更換鑷子否則應將鑷子加以清洗，且處理之順序應以由低濃度到高濃度為佳，以避免處理間之藥液污染。(注意：浸藥前藥液應先以玻棒攪拌均勻)。

5.2 生物檢定

5.2.1 桃蚜、偽菜蚜

試管中加水3 ml然後放入泡棉，放入藥液浸潤處理後晾乾之葉片，利用硬鑷子將葉背朝上放入。再利用毛筆(注意：毛筆先沾水再以紙巾吸乾，使毛成尖狀)將供試蟲接入，每一試管接入10~15隻。管口以尼龍網封住，置於鐵槽上。接完蟲後置於 21 ± 1 °C，70% RH，12D:12L生長箱內。24小時後觀察死亡率。

5.2.2 黑豆蚜、棉蚜

苗經藥液浸潤處理晾乾後用長鑷子放置指形瓶中，其後方法如上述。

5.3 觀察

以供試蟲之活動姿態判斷，先利用毛筆刺激使其活動，將不能活動者及立姿不平穩者記錄為死亡。結果記錄於表，參考害蟲抗藥性測試標準方法(01)之附錄二。

5.4 數據分析處理

測試結果以對機數分析，計算各供試濃度與死亡率相關性之各介量以及半數致死濃度。對每批生物檢定之結果，以對照組死亡率小於10% 為必要條件，如果超過則必須重做。此外至少需四個(含)以上處理濃度之結果，呈現隨濃度升高而增加之死亡率，且該死亡率在對照組之死亡率以上，但在100% 以下。

6. 參考文獻

金慧通、陶家駒。1989。台灣省常見蚜蟲彩色圖書。興農雜誌社。117頁。

農藥化學系。1999。害蟲抗藥性的監測。藥毒所專題報導五十五期。行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所技術專刊第86號。台中縣。16頁。

行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所。2000。植物保護手冊。行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所。台中縣。764頁。

Blackman, R. L., and Eastop, V. F. 1984. Aphids on the World's Crops: An identification and information guide. Wiley, Chichester. 466 Pages.

附錄一

瓜類、豆類雜食性蚜蟲分類檢索

(摘自 Blackman and Eastop 1984)

1. 無額側突起(antennal tubercles)或不明顯.....2
 有明顯額側突起.....6
2. 腹部背面中央有黑斑，位於第4-5節背板；尾片色深，呈舌狀或端部尖銳，其上具毛4-7根..... 黑豆蚜 *Aphis craccivora*
 腹部背面無色素分佈或僅有分散之黑點；尾片色淡或深，如為色深者，其上具毛7根以上.....3
3. 尾片色淡，若較色深仍較腹管(siphunculi)為淡.....4
 尾片色深，與腹管相同.....5
4. 腹部色深且均勻：後足腿節上毛之長度均較腿節基部直徑為..... 短棉蚜 *Aphis gossypii*
 腹管色淡，若色深則基部或端部為淡；後足腿節上生毛與腿節基部直徑等長或較之為長.....*Aphis nasturtii* (!)
5. 腹部背有黑斑，至少存在於第7及8節背板與腹管前各腹節之兩側.....*Aphis fabae* (!)
 腹部背面無任何深色斑點..... 捲葉蚜 *Aphis citricola*
6. 腹部節間有深色斑紋；觸角末節鞭部(terminal process)與基部長度比小於2.5倍；腹管錐狀微彎呈S形；體型小(體型小於2mm)呈卵形.....*Myzus ornatus* (!)
 腹部節間無明顯深色斑紋；觸角末節鞭部與基部長度比大於2.5倍；腹管錐狀、管狀或棍棒狀.....7
7. 額側突起為發散型；腹管長，端部約1/6外表有多角形網紋；尾片長，約為體長之1/5-1/7；紡錘狀體型大.....*Macrosiphum euphorbiae*
 額側突起為收斂型或近平行；腹管外表無多角形網紋；尾片短於體長之1/8；體型中小卵型.....8
8. 腹管錐狀，端部無膨大隆起；觸角第 節近基部具1感覺器.....*Aulacorthum solani*
 腹管端部稍具膨大隆起；觸角第 節無感覺器.....9
9. 腹管短小，較觸角第 節短，基部直徑最小處小於後足脛節中段直徑；額側突起近平行.....*Myzus ascalonicus* (!)
 腹管較觸角第 節長，基部直徑最小處於後足脛節中段直徑；額側突起大為收斂型..... 桃蚜 *Myzus persicae*
 (!)本島未記錄或少見種類

附錄二

當測定殺蟲劑對蚜蟲的半數致死濃度時，需先找到適合的測試濃度範圍。我們得先進行前驅試驗，以找到可使部分被藥劑處理的蟲子死亡，但死亡率尚未達 100% 的劑量範圍。可參考害蟲抗藥性測試標準方法(01)之附錄三。

依據植物保護手冊登記用於蚜蟲之防治殺蟲劑，選用下列 14 種測試，各殺蟲劑之起始藥液濃度及稀釋比分別列如下表：

藥劑名稱	有效成分及劑型	起始藥液濃度 (µg/ml)	測試濃度之序列稀釋比
益達胺(imidacloprid)	9.6% SL	33.3	1/2
比加普(pirimicarb)	50 % WP	133	1/3
免扶克(benfuracarb)	20 % EC	167	1/3
丁基加保扶(carbosulfan)	25% WP	33.3	1/3
納乃得(methomyl)	90% WP	200	2/3
培丹(cartap)	50% SP	400	1/4
賽扶寧(cyfluthrin)	5.7% EC	133	1/3
畢芬寧(bifenthrin)	2.8% EC	33.3	1/3
第滅寧(deltamethrin)	2.8% EC	66.7	1/3
護賽寧(flucythrinate)	31.6% EC	167	1/3
賽達松(phenthoate)	50% EC	500	1/3
達馬松(methamidophos)	50% SL	1000	1/2
美文松(mevinphos)	10% SL	10	2/3
馬拉松(malathion)	50% EC	300	2/3



圖 1. 自田間剪取棉蚜為害之瓜類寄主。

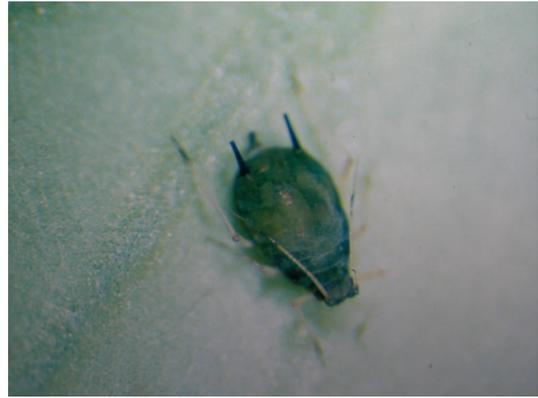


圖 2. 棉蚜。



圖 3. 自田間剪取黑豆蚜為害之豆科寄主。



圖 4. 黑豆蚜。



圖 5. 自田間剪取偽菜蚜、桃蚜為害之十字花科寄主。



圖 6. 偽菜蚜。



圖 7. 桃蚜。



圖 8. 用毛筆將被為害葉上之蚜蟲接置培育苗上。



圖 9. 用毛筆將被為害葉上之蚜蟲接置培育苗上。



圖 10. 將接有蚜蟲之培育苗外圍加套蟲網，防止蚜蟲脫逃。

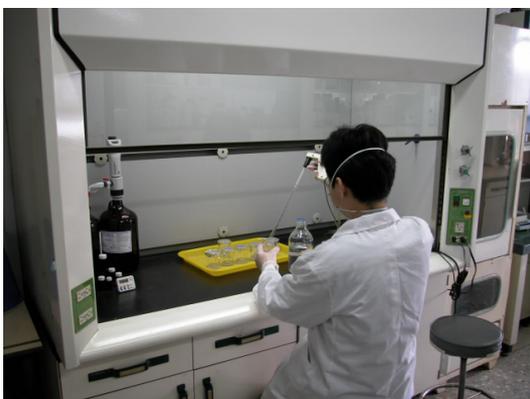


圖 11. 在排氣櫃中配製所需不同濃度之藥液。



圖 12. 利用邊緣鋒利之瓶蓋切割甘藍菜葉片，使面積大小、形狀相同(桃蚜及偽菜蚜浸藥餵食測試用)

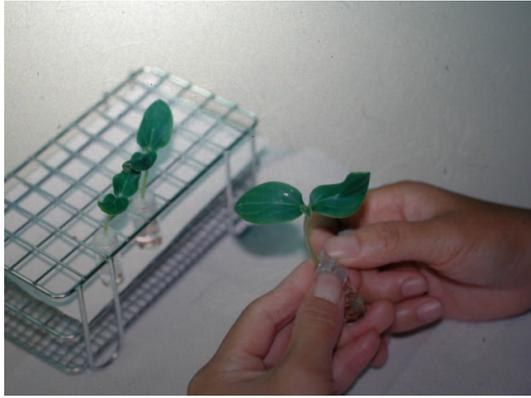


圖 13. 將胡瓜苗或紅豆苗插入玻璃瓶內，瓶內二次水 1ml，瓶口利用石臘膜封住，以防實驗苗枯死(棉蚜、黑豆蚜浸藥餵食測試用)



圖 14. 將試驗葉片浸入藥液中。



圖 15. 浸藥處理之試驗葉片晾乾。



圖 16. 指形瓶內加水及泡棉，使試驗葉片保濕並防止蚜蟲掉落水中。



圖 17. 將處理後之試驗葉片放入指形瓶中。

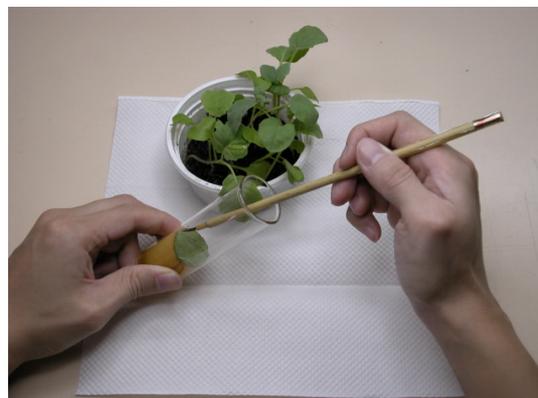


圖 18. 利用毛筆將子代第一代無翅成蟲接入。



圖 19. 利用毛筆將子代第一代無翅成蟲接入。



圖 20. 接蟲後之指形瓶利用尼龍網圈住。



圖 21. 將試驗蚜蟲放入生長箱內，24 小時後取出觀察蚜蟲對殺蟲劑的反應。



圖 22. 左邊為棉蚜、右邊為偽菜蚜或桃蚜接入試驗苗或葉片之情形。

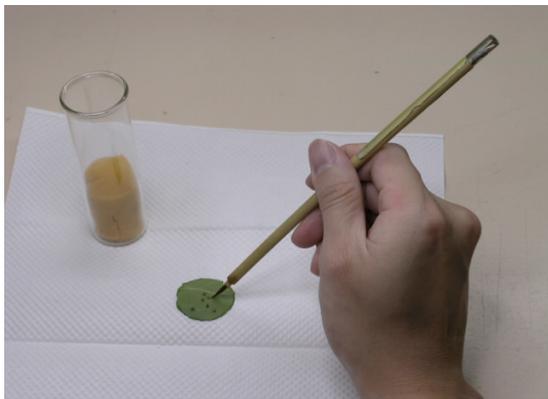


圖 23. 試驗 24 小時後將葉片取出觀察蚜蟲死亡率。



圖 24. 利用毛筆刺激使其活動，將不能活動者及立姿不穩者記錄為死亡。