

蔬菜斑潛蠅抗藥性之監測

許如君、陳曉涵、蔡尹文、馮海東

斑潛蠅(*Liriomyza* spp.)屬潛蠅科(Agrotyzidae)，有些地方斑潛蠅的抗藥性會嚴重造成防治無效^(2,5,7)。台灣目前以番茄斑潛蠅(*L. bryoniae*)、非洲菊斑潛蠅(*L. trifolii*)、蔬菜斑潛蠅(*L. sativae*)及南美斑潛蠅(*L. huidobrensis*)等外來種危害最嚴重。斑潛蠅可為害多種蔬菜及觀賞植物，主要寄主作物包括十字花科、菊科、茄科、豆科、葫蘆科及瓜類⁽¹⁻⁷⁾，其體形細小，成蟲黃黑色，雌成蟲利用其產卵管鞘戳破葉表皮產卵，幼蟲乳白色至深黃色，藏於葉內並蛀食葉肉組織，形成不規則的彎曲蛇形蛀道，因而嚴重影響作物的外觀、降低光合作用率及產量。三齡期幼蟲成熟後，從蛀道中爬出葉面或掉落表土化蛹^(1,5-7)。針對斑潛蠅防治手段有黃色黏板防治、藥劑防治及生物防治等方法，不過目前仍以噴灑殺蟲劑為主^(5,7)，因斑潛蠅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，經由我們2002年的調查(表1.)，田間豆科及葫蘆科的作物上多為蔬菜斑潛蠅的為害，其比例可達95%以上，所以針對蔬菜斑潛蠅，我們發展田間抗藥性監測的方法。本文調查各地蔬菜斑潛蠅對目前登記防治斑潛蠅所用藥劑之感受性，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

1.1 成蟲

自各地區田間採取豆科及葫蘆科蔬菜上斑潛蠅受害葉帶回實驗室飼養，待老熟幼蟲自葉內鑽出，收集蟲蛹；成蟲羽化後檢易鑑定後供藥劑實驗用⁽⁸⁾。利用丙酮稀釋藥劑製作均勻藥膜，24小時後觀察斑潛蠅死亡情形，其中培丹(Cartap)不溶於丙酮，改採甲醇為溶劑，實驗方法如前。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。

1.2 幼蟲

自各地區田間採取豆科及葫蘆科蔬菜上斑潛蠅受害葉帶回實驗室飼養，待老熟幼蟲自葉內鑽出，收集蟲蛹；成蟲羽化後以四季豆葉片供其產卵，並取第一子代作為藥劑實驗用。配製不同濃度的藥液，以噴葉塔處理帶蟲葉片，藥劑處理後之第六天觀察斑潛蠅死亡情形。

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)，供做抗藥性比較之基準。

2. 器材與設備

2.1 成蟲

2.1.1 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60 mesh以上，田間採集時放置被害葉或套住鐵架供斑潛蠅蛹羽化用。
鐵架	40 (L) cm × 20 (W) cm × 15 (H) cm，放置斑潛蠅成蟲用。
糖水	10%稀釋糖水，供成蟲取食用。
棉花	供斑潛蠅成蟲取食用。揉成團狀，放入玻璃瓶口用。
玻璃瓶	10 mL，放入糖水及棉花，管口用橡皮筋將棉花固定。
橡皮筋	固定棉花用。
衛生杯	將斑潛蠅被害葉插入用，9.5 (ID) cm × 5.5 (H) cm。
水	純水，供葉片吸水保鮮用。
紙巾	墊在衛生杯下以利老熟幼蟲化蛹用。
水盤	放置衛生杯用，上面墊上紙巾。
毛筆	小楷，挑取蟲蛹用。

2.1.2 簡易鑑定蟲種

培養皿	鑑定品種時，浸泡斑潛蠅成蟲用。
酒精	75%稀釋酒精，保存蟲體用。
攝子	鑑定品種時，翻動蟲體用。
顯微鏡	品種鑑定用。

2.1.3 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°C或以下。
溶劑	利用丙酮稀釋藥劑製作均勻藥膜，其中培丹不溶於丙酮，改採甲醇為溶劑。
玻璃瓶	2.5 (ID) cm× 5.5 (H) cm，配製藥液用
閃爍瓶	3 (ID) cm× 6.5 (H) cm，放置藥液製成藥膜、測試時使用。
試管滾動器	使閃爍瓶中之藥液形成均勻藥膜用。
吸蟲器	收集斑潛蠅成蟲用。
尼龍網	7 cm× 7 cm，網目60 mesh以上，蓋住閃爍瓶，防止成蟲跑出閃爍瓶用。
橡皮筋	固定尼龍網用。
瓶蓋	1.5 (ID) × 1 (H) cm，放置棉花用。
棉花	揉成團狀，放入瓶蓋內供吸附糖水用
糖水	10%稀釋糖水，每一瓶蓋內棉花團加入糖水1 mL，供成蟲取食用。
試管架	21 (L) cm× 14 (W) cm× 7 (H) cm放置閃爍瓶用。

2.2 幼蟲

2.2.1 採集及飼養

剪刀	田間採集被害葉用。
大塑膠盆	48.5 (L) × 38.2 (W) × 13 (H) cm，飼養幼蟲。
紙巾	墊在塑膠盆底以利老熟幼蟲化蛹用。
毛筆	小楷，挑取蟲蛹。
衛生杯	放置蟲蛹。
尼龍網袋	60 (L) cm × 20 (W) cm × 16 (H) cm，網目 60 mesh以上，田間採集時放置被害葉、套住鐵架用。
鐵架	40 (L) cm × 20 (W) cm × 15 (H) cm，放置斑潛蠅成蟲用。
糖水	10%稀釋糖水，供成蟲取食。
小塑膠盆	26.8 (L) × 22.5 (W) × 6.2 (H) cm，供種植四季豆
四季豆	供成蟲產卵與飼養幼蟲用。
鐵網	26.8 (L) × 22.5 (W)，放置葉片供成蟲產卵。

試管架 19 (L) × 9 (W) × 7 (H) cm，飼養幼蟲。
 水 純水，供葉片吸水保鮮。

2.2.2 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 °C 或以下。
 燒杯 100 mL，配製藥液用。
 Potter 噴藥塔 噴灑藥劑使用。
 指形管 6.5 (H) × 1.5 (OD) cm，放置藥液用。
 培養皿 9 cm，放置葉片用。
 棉花 包住葉片莖部，供葉片保濕。
 水 純水，供葉片吸水保鮮。
 石蠟膜 密封培養皿。
 水盤 放置培養皿便於觀察。

3. 供試昆蟲

3.1 成蟲

3.1.1 採集

自田間剪取斑潛蠅被害葉集中於網袋中。每測試一種藥劑有效成分約需斑潛蠅成蟲300隻，採集時應先推估取得足量之蟲數(見附錄一)。

3.1.2 飼養

採集含斑潛蠅幼蟲之寄主受害葉片帶回實驗室後，將寄主葉片立刻插水防止葉片枯萎，再放置於墊有紙巾之水盤上，置室溫中待老熟幼蟲鑽出化蛹，再利用毛筆收集蟲蛹。將收集之蛹放在套好尼龍網袋之鐵架中，置 25 ± 1 °C，70% RH，12D：12L生長箱內。

3.1.3 鑑定

將實驗觀察後之斑潛蠅浸入75%酒精中延緩蟲體腐敗，等斑潛蠅死後，利用攝子將蟲體移至顯微鏡下，觀察雄斑潛蠅腹部背板色型之變化以分別種類，以具圖一之斑點色型及外生殖器外觀型式為蔬菜斑潛蠅(5, 8)。

3.1.4 測試用蟲之供應

利用吸蟲器收集具向光性，蟲齡為1~3日齡之成蟲，每處理濃度之蟲數至少需達30隻。

3.2 幼蟲

3.2.1 採集

自田間剪取斑潛蠅被害葉集中於網袋中。每測試一種藥劑有效成分約需斑潛蠅幼蟲 200 隻，採集時應先推估取得足量之蟲數。

3.2.2 寄主植物之栽培

四季豆種子在 25 °C 下浸泡 2 小時待其吸水飽滿後，即移種於溫室，培養土與蛭石 1：1 混合，並以水盤保持其溼度，經 5~7 天，四季豆苗發育至真葉葉片寬達 7~9 cm 時，即可供室內蔬菜斑潛蠅成蟲產卵用。

3.2.3 飼養

採集帶有斑潛蠅幼蟲之寄主葉片帶回實驗室後，將受害葉片放置於墊有濕紙巾之塑膠盆中，置 25 ± 1 °C，70 % RH，12D：12L 生長箱內，待老熟幼蟲鑽出化蛹，利用毛筆收集蟲蛹。將收集之蛹放在套好尼龍網袋之鐵架中，待其羽化；成蟲羽化後放置四季豆葉片供其產卵，經產卵24小時後，將四季豆苗取出插入水中，放置於生長箱內 (21±1 °C，70 % RH，12D：12L) 飼養，產卵後第六日之葉片作為藥效測試材料。

3.2.4 測試用蟲之供應

測試蟲齡為三齡之幼蟲 (產卵後第六日)，每處理濃度之蟲數至少需達 30 隻。

4. 供試藥劑

各藥劑以純水稀釋為 10 mg/mL 後，利用丙酮序列稀釋藥劑，其中培丹不溶於丙酮，改採甲醇為溶劑。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(見附錄一及附錄二)，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 成蟲

5.1.1 藥膜的處理

利用丙酮序列稀釋藥劑 5-6 個濃度，每個濃度 0.2mL 滴入閃爍瓶中，每個濃度重覆三次，再將滴有藥液之閃爍瓶放置滾動機上滾動，待藥液完全揮發以

製作均勻藥膜；其中培丹不溶於丙酮，改採甲醇為溶劑，其他方法如上述。

5.1.2 生物檢定

使用吸蟲器收集斑潛蠅成蟲，然後放入具有藥膜處理之閃爍瓶中，瓶口利用尼龍網封住，防止試驗蟲飛出。倒放置試管架上，瓶口下方放置加有 10% 糖液、棉花處理之瓶蓋，供試驗蟲取食。每一試管接入 10~15 隻，置於 25 ± 1 °C，70% RH，12D：12L 生長箱內。24 小時後觀察死亡率。

5.1.3 觀察

以供試驗蟲之活動姿態判斷，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。

5.1.4 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。

5.2 幼蟲

5.2.1 葉片的處理

供試藥液依序列稀釋配製成不同濃度後盛裝於 100 mL 燒杯內，將成蟲產卵後第六日已帶蟲癭的四季豆葉片由莖部剪下，並於末端包覆濕棉花，放置於培養皿中，利用噴葉塔將供試藥液均勻噴灑於葉表，置於抽氣櫃中晾乾。變換處理不同濃度之藥液時，處理之順序應由低濃度到高濃度為佳，處理不同種類之藥液時則須更換指形管，避免藥液污染情形發生。(注意：藥液若有沉澱的情形應先攪拌均勻。)

5.2.2 生物檢定

帶蟲的葉片經藥劑處理後，放入培養皿中，並利用石蠟膜密封，防止葉片乾枯導致幼蟲死亡。培養皿置於生長箱 (21 ± 1 °C，70 % RH，12D：12L)內。藥劑處理六日後觀察死亡率。

5.2.3 觀察

以供試驗蟲之體色、體型與食痕作為判斷之依據，將體色變黑、體型縮小且食痕乾枯成褐色者記錄為死亡。結果記錄於表，參考害蟲抗藥性測試標準方法(01)之附錄二。

5.2.4 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

- (1)行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所編。2007。植物保護手冊。行政院農委會農業藥物毒物試驗所印。台中縣。884 頁。
- (2)李錫山。1990。殺蟲劑防治番茄斑潛蠅及其對寄生蜂之影響。中華昆蟲 10：183-189。
- (3)李錫山、呂鳳鳴、溫宏治。1990。溫度對番茄斑潛蠅發育之影響。中華昆蟲 10：143-150。
- (4)林鳳琪、王清玲。非洲菊斑潛蠅之田間偵測。中華昆蟲特刊第四號。蔬菜害蟲綜合防治研討會專刊：59-69。
- (5)蕭旭峰、吳文哲。1998。蔬菜斑潛蠅之生態與防治。科學農業 46：312-318。
- (6)錢景秦、古琇芷。1996。非洲菊斑潛蠅之形態、生活史及繁殖力。中華農業研究 45：69-88。
- (7)鄭清煥。1998。危害蔬果及觀賞作物之斑潛蠅生態及其防治。農業世界雜誌 176：54-58。
- (8)S.-F. Shiao. 2004. Morphological diagnosis of six *Liriomyza* species (Diptera: Agromyzidae) of quarantine importance in Taiwan. *Appl. Entomol. Zool.* 39: 27-29.
- (9)Zitter, T. A., J. H., and Harris, K. F. 1980. Flies. pp.165-176. In: Harris, K. F., and Maramorosch, K. (eds.) *Vectors of plant-pathogens*. Academic Press, New York, USA.

附錄一

表 1. 斑潛蠅之參考採集地點、寄主植物、時間及種類

地點	寄主植物	時間	種類
台中地區(霧峰)	豇豆	2002-10-3	100% 蔬菜斑潛蠅
南投地區(草屯)	黃瓜、四季豆	2002-10-4	98% 蔬菜斑潛蠅；2% 番茄斑潛蠅
彰化地區(二水)	絲瓜	2002-10-18	99% 蔬菜斑潛蠅；1% 番茄斑潛蠅
雲林地區(林內)	豇豆	2002-9-10	99% 蔬菜斑潛蠅；1% 番茄斑潛蠅
高雄地區(路竹)	豇豆	2002-9-17	100% 蔬菜斑潛蠅
屏東地區(九如)	四季豆	2002-10-23	100% 蔬菜斑潛蠅

附錄二

當測定殺蟲劑對斑潛蠅的半數致死濃度時，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斑潛蠅之防治殺蟲劑，選用下列 8 種測試，各殺蟲劑之起始藥液濃度及稀釋比分別列如下表：

表 1. 成蟲試驗藥劑之成分及劑型、起始藥液濃度、測試濃度之序列稀釋比

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
培丹 (cartap hydrochloride)	50% SP	70	1/3
三落松(triazophos)	40% EC	30	1/3
佈飛松(profenofos)	43% EC	167	1/3
歐殺滅(oxamyl)	24% SL	420	1/3
硫賜安(thiocyclam hydrogen oxalate)	50% WP	10	1/3
阿巴汀(abamectin)	2% EC	167	1/3
第滅寧 (deltamethrin)	2.8% EC	15	1/3
賽洛寧(lambda-cyhalothrin)	2.8% EC	40	1/3

表 2. 幼蟲試驗藥劑之成分及劑型、起始藥液濃度、測試濃度之序列稀釋比

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
培丹 (cartap hydrochloride)	50% SP	180	1/2
三落松 (triazophos)	40% EC	700	1/2
佈飛松 (profenofos)	43% EC	700	1/2
歐殺滅 (oxamyl)	24% SL	2200	1/2
硫賜安 (thiocyclam hydrogen oxalate)	50% WP	6	1/2
阿巴汀 (abamectin)	2% EC	16	1/2

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
第滅寧 (deltamethrin)	2.8% EC	80	1/2
賽洛寧 (lambda-cyhalothrin)	2.8% EC	150	1/2
賽滅淨 (cyromazine)	75% WP	400	1/2

*SP: water soluble powder; EC: emulsifiable concentrate; SL: soluble concentrate; and WP: wettable powder.

一、成蟲試驗法



圖1. 利用蔬菜斑潛蠅雄性腹部背板黃色色斑變化及生殖器特徵以分別種類，並詳加記錄；圖A為蔬菜斑潛蠅雄蟲及雌蟲腹部圖，圖B為蔬菜斑潛蠅雄蟲腹部背板色斑及生殖器外觀圖。



圖2. 自田間剪取斑潛蠅為害作物之葉片。



圖3. 將被害葉插入裝水之布丁杯中，中間鋪層紙巾，放置水盤上。



圖4. 斑潛蠅對被害葉之危害情形。



圖5. 利用毛筆挑取蟲蛹集中至布丁杯中。



圖6. 將蟲蛹集中放至尼龍網袋套住之鐵架內。



圖7. 在排氣櫃中配製所需不同濃度之藥液。

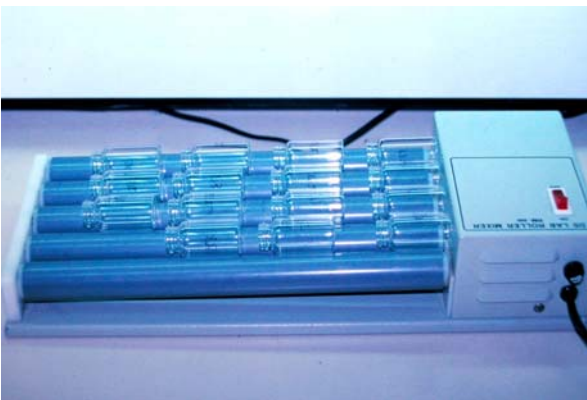


圖8. 每個濃度0.2 mL 滴入閃爍瓶中，再將滴有藥液之閃爍瓶放置滾動機上滾動，待藥液完全揮發以製作均勻藥膜。



圖9. 每一瓶蓋加入棉花及10%糖水1 mL，供試驗蟲取食用。



圖10. 利用吸蟲器收集試驗蟲。

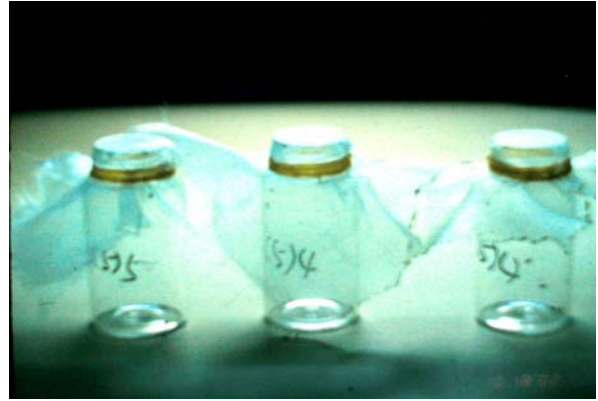


圖11. 將試驗蟲放入閃爍瓶中，瓶口蓋住尼龍網。



圖12. 將沾有1 mL 的10%糖水之棉花放置瓶蓋內後，放置試管架上，再將裝入試驗蟲之閃爍瓶倒放置瓶蓋上方讓斑潛蠅可取食到糖水，放入生長箱內。



圖13. 將不能活動者及立姿不平穩者記錄為死亡。

二、幼蟲試驗法



圖1. 自田間摘取斑潛蠅為害作物之葉片。



圖2. 蔬菜斑潛蠅幼蟲危害葉片之食痕。



圖3. 將蟲蛹集中放至尼龍網袋套住之鐵架內。



圖4. 四季豆苗插入裝水的塑膠盆中。



圖5. 鐵架內放置四季豆苗供班潛蠅成蟲產卵。



圖6. 產卵經 24 小時後將豆苗取出並插入水中，避免豆苗乾枯。



圖7. 將帶蟲的葉片剪下後於莖部包覆濕棉花，放置於培養皿中。

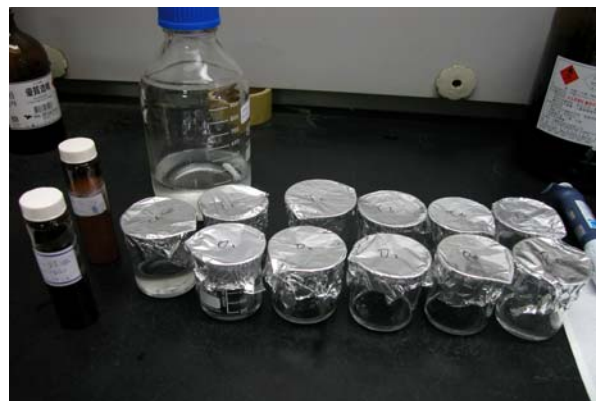


圖8. 在排氣櫃中配置不同濃度的藥液。



圖9. 每個濃度 1.5 mL 注入噴葉塔上方的指形管。

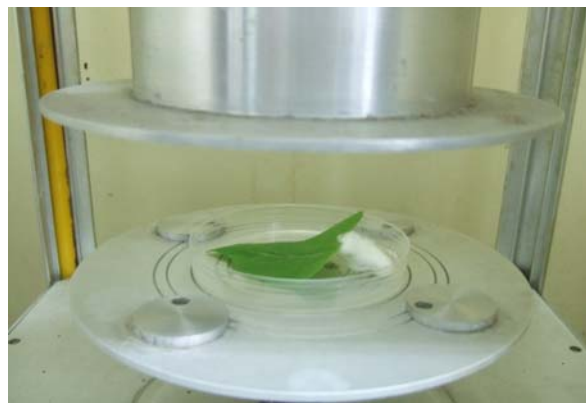


圖10. 噴藥塔下方擺放受試葉片之培養皿。



圖11. 利用噴藥塔將藥液均勻噴灑於葉片上。

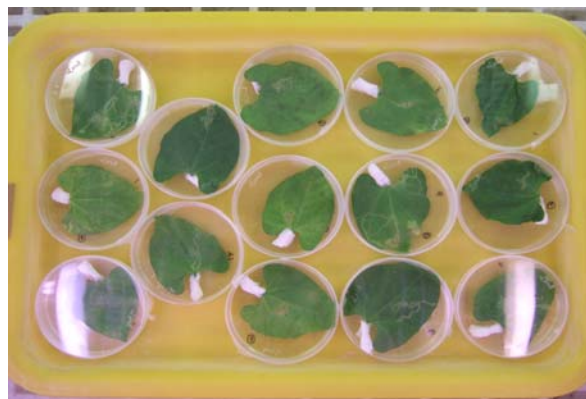


圖12. 待藥液揮發後以石蠟膜密封，放置於生長箱內，處理六日後觀察斑潛蠅幼蟲對藥劑的反應。

【攝影：陳曉涵、李建佑、鄭欽祥、許如君】