

小菜蛾幼蟲感受性試驗方法

簡介

方法編號	IRM003	
物種	小菜蛾 Diamondback moth <i>Plutella xylostella</i>	
齡期	2~3 齡幼蟲	
殺蟲劑類別	胺基甲酸鹽類 Carbamate (1A)* 有機磷類 Organophosphate (1B)* 有機氯類 Organochlorine (2A)* 苯吡唑類 Fiprole (2B)* 合成除蟲菊酯類 Pyrethroid (3A)* 賜諾斯類 Spinosyn (5)* 阿維菌素 Avermectin (6)* 因得克 Indoxacarb (22A)* 美氟綜 Metaflumizone (22B)* Pyridalyl (un)* 苯甲醯脲類 Benzyl urea (15)** 二醯胺類 Diamides (28)** 二醯基聯氨類 Diacylhydrazine (18)***	小菜蛾幼蟲  小菜蛾成蟲 <i>Plutella xylostella</i> (吳昌昱攝)
附註	感受性試驗的觀察時間依殺蟲劑作用機制不同而有所不同： *表示觀察 72 小時 **表示觀察 96 小時 ***表示觀察 120 小時（須適時加入新鮮植物葉片，以避免幼蟲過於飢餓，並在幼蟲死亡率評估之前，應先判斷是否脫皮） 本方法參照 IRAC 標準測試方法 IRAC Susceptibility Test Method 018 (Version 3.4 March 2010) 並依照國內用藥及操作經驗改寫，內容僅供學術使用。 承動植物防疫檢疫局計畫 (106 農科-9.5.1-檢-B1) 經費贊助，一併誌謝。	

材料

裝蟲容器、剪刀、鑷子、毛筆刷、燒杯、滴管、微量注射器、未經藥劑處理的甘藍葉、紙巾、溫度計、濾紙、解剖針或細鑷子、解剖顯微鏡（可調節倍率）。

方法

1. 採集來自同個地區具有試驗代表性的小菜蛾幼蟲直接進行試驗或飼養至 F1，試驗蟲齡以 2~3 齡最為合適。採集後的試驗蟲在飼養階段應保持在最合適的生長條件下，飼養時不應有高溫、高濕度或食物不足的逆境產生。
2. 收集足量未經感染且未做任何處理的寄主植物葉片，整片葉子最佳，採收過程中葉子應避免枯萎，盡可能將植物保持在潮濕環境中（如灑水的塑膠袋內），甘藍菜及花椰菜 (*Brassica oleracea*) 是寄主植物的最佳選擇，而白菜及蕪菁 (*Brassica rapa*) 次之。寄主植物的選擇也應詳盡記錄以供將來試驗作為參考。
3. 遵照商品化殺蟲劑的說明精確配置多個稀釋濃度（如第一次進行測試，建議選擇 6 個濃度）。如葉表面有較多的蠟質需要較多溶液的狀況下，在控制組中也要加入等量的溶液，過多的溶液對於殺蟲劑的效能有一定的影響，溶液的量需詳盡紀錄並且與感性品系的數據結果進行比較。
4. 葉片浸藥時，每片葉片在具有持續攪拌中的藥液內放置 5 秒，之後置於乾紙巾上（葉背朝上）。葉片大小盡量相同且不能有枯萎或嚴重破損，建議每個濃度至少 4 片葉子，且在實驗前給予幼蟲充足的食物，避免處於飢餓環境。浸葉順序首先為對照組，之後再處理殺蟲劑組，濃度由低到高。
5. 在葉片乾燥後（葉面無明顯液體）放置標記過的測試容器當中，葉片狀態應需良好，必須能夠在容器中保持至少 96 小時（如試驗中過於潮濕可將濾紙放置在容器的底部內，以吸收任何過量的水氣）。
6. 將 2 齡幼蟲平均放至每個試驗容器中，每個濃度最少 40 隻試驗蟲，且每個容器之中蟲數不宜超過 10 隻，容器須密封或具有蓋子防止幼蟲逃出。
7. 容器需放置於非陽光直射與非極端溫度的區域。試驗同時記錄環境最高與最低的溫度。其中在 25°C、相對濕度 60%、以及 16:8 光/暗小時是最好的環境。
8. 當幼蟲無法做協調運動或對刺激產生反應，都被視為死亡，可用鑷子或解剖針輕戳幼蟲尾部（測試時間如附表），另外也可記錄下葉子的受損程度以瞭解更多的信息。
9. 結果以百分比紀錄死亡率，如“未處理”（控制組）具有死亡需以 Abbott 公式校正。未處理的死亡率應詳盡記錄。建議死亡率數據利用百分比與對數劑量分析，以提供各測試殺蟲劑或昆蟲種群 LC₅₀ 和 LC₉₀ 的百分比。
10. Abbott 公式：校正死亡率 = (測試的死亡率 [%] - 對照組死亡率 [%]) x 100 / (100% - 對照組死亡率 [%])。

注意事項

1. 在不與殺蟲劑產生反應或影響殺蟲劑效能的前提下，選擇一次性使用塑膠製容器飼養較佳；如使用為重複玻璃容器，在每次使用前必須以適當的有機溶劑進行充分清洗。

2. 成品殺蟲劑含有不同濃度的其他活性成分。在使用時應確認殺蟲劑的有效成分 (AI) 與其他活性物質含量。一些二醯胺類殺蟲劑成品會與其它殺蟲劑混合，不應將這些有混合的殺蟲劑作為感受性測試所使用，因為混合物可能對所產生的死亡率數據具有顯著影響。
3. 進行生物檢定時，儘可能所有藥液濃度同時進行檢測。