

行政院及所屬各機關出國報告
(出國類別：研習)

執行 103 年度農委會國際農業合作
領域「昆蟲刺探電位圖譜(EPG)技術
在媒介昆蟲防治之應用研究」計畫，
至美國短期研習出國報告書

服務機關：行政院農業委員會農業試驗所

姓名職稱：石憲宗 副研究員

派赴國家：美國

出國期間：103 年 7 月 18 日至 8 月 7 日

報告日期：103 年 10 月 25 日

摘要

本案報告人為本計畫主持人石憲宗，出國研習係執行行政院農業委員會農業試驗所 103 年度「昆蟲刺探電位圖譜 (EPG) 技術在媒介昆蟲防治之應用研究」計畫 (計畫編號 103農科-4.1.1-農-C1)，本計畫主要是至美國研習第 3 代昆蟲刺探電位圖譜 (Electrical penetration graph, 簡稱 EPG) 儀器之操作與分析技術，盼能將此技術與儀器引入我國，研究各類刺吸式口器害蟲取食行為與電位圖譜的關聯性，分析與建立此些害蟲共通或特定的電位圖譜資訊，使之可應用在害蟲寄主選擇、抗蟲育種檢測、抗藥性檢測、媒介昆蟲傳病特性等相關研究。本次出國研習期間自 103 年 7 月 18 日至 8 月 7 日，共計 21 日，研習地點為美國農業部加州帕里爾市經瓦金谷農業研究中心 (San Joaquin Valley Agricultural Sciences Center, Parlier, CA, USDA/ARS)，研習成果包括：(1) 完成 AC/DC EPG Workshop 之正課與實習課內容研習；(2) 蒐集 EPG 英文研究報告，共計 430 篇；(3) 至 Dr. R. Krugner 實驗室，參訪媒介葉蟬防治新技術，並實地參訪杏仁被 *Xylella fastidiosa* 感染的田間試驗病圃，瞭解此類病害的田間試驗。

關鍵詞：昆蟲刺探電位圖譜 (Electrical penetration graph)、媒介昆蟲 (vector)、刺吸式口器害蟲 (sucking pest)、抗蟲育種 (breeding for insect resistance)、抗藥性檢測 (detection of insecticide resistance)。

目次

壹、目的	4
貳、前言 (前人研究概況、擬解決問題)	4
參、研習日程表	6
肆、內容與心得 (研習過程與成果分享報告)	7
伍、檢討與建議事項	8
陸、附錄 (研習過程重要圖說)	8
柒、參考文獻	9

壹、目的

薊馬、蚜蟲、粉蝨、木蝨、介殼蟲、葉蟬、沫蟬、飛蝨等刺吸式口器昆蟲，具有體型小、世代短與隱匿性強的特性，為害植物的方式除吸食植物汁液（水份或養份）造成直接為害外，尚有分泌蜜露造成煤煙病或傳播植物病害等間接為害為植物重要害蟲，此類害蟲一般，此些為害方式皆與取食行為有關。由於農友發現作物出現直接或間接為害徵狀時，通常已超過害蟲的防治時機，為能研擬妥善的整合防治管理策略，有必要釐清刺吸式口器害蟲取食行為與寄主選擇及傳病機制的相互關係。

昆蟲刺探電位圖譜 (Electrical penetration graph, 簡稱 EPG) 技術是用來記錄刺吸式口器昆蟲口針在寄主組織刺探與取食行為的電信號變化特徵技術，是由美國加州大學 McLean 和 Kinsey 兩位學者，於 1964 年首次設計交流回路系統測定蚜蟲取食行為之監測系統，此稱為第一代 EPG，即 AC EPG；Tjallingii (1978) 採用直流回路系統，並以高值輸入阻抗，使之可將生物微電流 (mV) 放大 50~5000 倍，使儀器可輸出更加準確與細緻的電波圖譜，此稱為第二代 EPG，即 DC EPG；其後，Backus and Bennett (2009) 發表第三代 EPG，即 AC-DC EPG 至。迄今，EPG 已成為全球研究刺吸式口器昆蟲之取食行為、寄主選擇、傳播作物病害的傳病機制、植物抗蟲機制、系統性藥劑對感性抗性害蟲取食影響之重要分析儀器。

本計畫研提之前，我國並無學者引入此套儀器及其分析技術從事相關研究，這也是本計畫主持人研提此出國研習計畫的重要目的，盼藉由執行本計畫，配合農試所請購 EPG，由計畫主持人在國內應用與推廣此技術，縮短國內對抗蟲育種、傳病驗證與相關研究的研發時間，使之可真正解決產業防治刺吸式昆蟲的瓶頸。

貳、前言

(壹) 前人研究概況

一、國內

國內昆蟲學領域，在本計畫執行之前，從未引入 EPG 從事農業昆蟲之相關研究。本研習者所屬之農業試驗所，為亞洲首次引入 AC/DC EPG 研究刺吸式口器昆蟲刺探與取食行為的生物研究機關，未來本研習人將與農試所及其他機關學校之相關研究人員共同合作，建立研究基礎，進而與中國大陸及其他亞洲國家已應用 AC EPG 或 DC EPG 進行相關研究的學者，就不同 EPG 系統的優缺點進行討論與改進，以提升 EPG 在農業昆蟲與產業應用之研究效能。

二、國外研究概況

(一) EPG 研究範疇

自 1964 年美國加州大學 McLean 和 Kinsey 兩位學者發明 AC EPG 以來，EPG 系統發展迄今，已有 AC EPG (McLean and Kinsey, 1964)、DC EPG (Tjallingii, 1978) 與 AC-DC EPG (Backus and Bennett, 2009) 三種類型。

EPG 系統的應用原理，主要將昆蟲與植物分別與生物電流放大器之昆蟲電極和植物電極連接，昆蟲電極是以長度 2~3 公分，直徑約 10~20 μm 之金絲，以水溶性導電銀膠黏在昆蟲前胸背板，另將植物電極插入植物生長的土壤中，當昆蟲口針刺入植物組織時，形成一個完整回路，回路電流經電流放大器放大之後，即可輸出一系列的電流波譜（當中包含不同的波形）。

檢視全球歷年來有關 EPG 系統在農業昆蟲的研究報告，可知初期發展的

30 年，EPG 研究的重要貢獻是建立重要刺吸式口器昆蟲的刺探與取食行為的主要波形，其後以此基礎，將其應用在寄主選擇（即寄主偏好）、傳播作物病害的傳病機制、植物抗蟲機制與系統性藥劑對感性抗性害蟲取食影響等研究，近幾年更在既有基礎上，進一步從分子角度，探討植物代謝產物對昆蟲取食行為的影響。

由往昔研究資料可知，EPG 已成功應用在至少 50 種以上刺吸式口器昆蟲的刺探與取食行為研究 (Backus, 1994; van Giessen and Jackson, 1998)。

(貳) 擬解決問題

由昆蟲傳播之植物病害，對作物所造成的經濟損失，遠高於昆蟲或病害單獨造成的損失。除此，蟲媒病害至今無藥可醫，降低病害傳播速度與經濟損失的最佳策略，就是剷除病株及降低媒介昆蟲適存環境。國內往昔支持蟲媒作物病害與媒介昆蟲的研究，僅著重在糧食與栽培面積較大的作物，並重點支持抗蟲育種、施用殺蟲劑及健康種苗等研究工作，許多重要基礎研究卻少有發展，例如國內缺乏媒介昆蟲取食部位與傳病驗證的研究，致使許多蟲媒病害之媒介昆蟲種類，至今尚未確認，農友也因此無法確認真正的防治目標，徒費防治成本。美國加州大學戴維斯分校在 1964 年研發昆蟲刺探電位圖譜 (Electrical penetration graph, 簡稱 EPG) 儀器，其原理是將生物電極分別聯接在刺吸式昆蟲與植物之上，藉由昆蟲刺探與取食植物所產生之不同電流反應，經過生物電流放大器，解讀昆蟲口針嘗試刺探或真正吸食的反應。目前 EPG 已發展至第 3 代，並已應用在刺吸式口器之媒介昆蟲（如蚜蟲、粉蝨與葉蟬等）與寄主植物相互關係的研究，包括確認害蟲寄主植物、瞭解作物化學物質或殺蟲劑如何影響昆蟲取食行為、確認害蟲傳病機制、害蟲與傳統抗蟲作物或轉基因抗蟲作物之抗性機制研究等。

有鑑於國內至今從未引入此套技術，故本計畫主持人擬至美國農部加州帕里爾市經瓦金谷農業研究中心 (San Joaquin Valley Agricultural Sciences Center, Parlier, CA, USDA /ARS) 學習第 3 代昆蟲刺探電位圖譜 (即 AC-DC EPG) 儀器之操作與分析技術，盼能將此技術與儀器引入我國，應用在媒介昆蟲防治的相關研究，同時也可協助作物育種專家所短抗蟲檢測的時程，協助產業確認害蟲防治目標、確認害蟲中間寄主與縮短作物抗蟲育種的研發時間。

參、研習日程表

本計畫主持人於美國農業部加州帕里爾市經瓦金谷農業研究中心之研習日程表，詳如 Table 1。

Table 1 Research itinerary for Hsien-Tzung Shih visit to San Joaquin Valley Agricultural Sciences Center, Parlier, CA, USDA /ARS

Date	Major event	Person in charge	Accommodation	Transportation
July 18 (Fri)	14:50 Arrives in LAX Airport, CA (Chinese Airlines, CI 6)	-	Comfort Suites Hotel, Fresno, CA	Airplane
July 21 (Mon.) – August 1 (Fri.)	Attend AC/DC EPG Workshop at Dr. Backus's lab. of USDA-ARS Parlier: to learn how to operate the AC/DC Electrical Penetration Graph (EPG) Monitor System to confirm the feeding sites of vectors; to study the analysis of waveform from the AC/DC EPG Monitor System	Dr. E. A. Backus	Comfort Suites Hotel, Fresno, CA	-
August 4 (Mon.) - 5 (Tues.)	Intensive AC/DC EPG practicum to establish the stylet penetration patterns of hemipteran insects; discuss the integrated management of HLB and PD with Dr. Hong Lin, and Dr. R. Krugner.	Dr. E. A. Backus, Dr. Hong Lin, and Dr. R. Krugner	Dr. H. Lin's house	-
August 6 (Wed.)	Leaving Fresno for Los Angeles (Departure at 11:30 in FAT; AA2602) Leaving Los Angeles for Taiwan (Departure at 16:50 in LAX; CI 5)	-	-	Airplane
August 7 (Thur.)	21:05 Arrives in TAIPEI TAOYUAN Airport	-	-	Airplane

肆、內容與心得 (研習過程與成果分享報告)

本次出國研習時間自 103 年 7 月 18 日至 8 月 7 日。研習地點為美國農業部加州帕里爾市經瓦金谷農業研究中心 (San Joaquin Valley Agricultural Sciences Center, Parlier, CA, USDA/ARS)。Dr. Elaine A. Backus 為本次研習者之主要接待者與指導教授；另該組之 Dr. H. Lin 與 Dr. R. Krugner 在研習過程亦提供相當多協助，本研習人在此感謝三位昆蟲研究員。

茲將研習內容與心得，分項詳述如下，以作為學者研究此類議題的參考。敬請援引本報告的學者，將本報告列入參考文獻。

(壹) 研習機關與單位簡介

美國農業部加州帕里爾市經瓦金谷農業研究中心 (San Joaquin Valley Agricultural Sciences Center, Parlier, CA, USDA/ARS)，為美國農部在西太平洋區域加州的其中一個研究中心。Dr. Elaine A. Backus 所屬學組則為該單位三個研究學組 (units) 的其中一個 - 作物病蟲害與遺傳研究組。

(貳) 研習內容

一、AC/DC EPG 系統 Workshop 之重要研習內容與討論

本研習人向研習機關提出ARS-230申請表獲通過之後，Dr. E. A. Backus 特別根據我方提出的研究需求，辦理本次 Workshop，學員包括本研習人以及該單位 1 位博士後研究員 (Dr. Cervantes)、2 位暑期工讀生與 2 位計畫助理，共計 6 人。

本次課程內容區分為正課與實習課：(一) 正課內容主題包括 (1) EPG 系統發展史與應用，(2) 半翅目昆蟲 (聚焦於異翅亞目、蟬亞目、飛蝨亞目、腹吻亞目為主) 之取食機制，(3) 蚜蟲口針之刺探行為與 EPG 波形，(4) EPG 之試驗設計，(5) 亞洲柑橘木蝨的 EPG 波形研究及其在蟲害管理之應用，(6) 粉蝨之 EPG 金絲黏接技術與 EPG 波形種類，(7) 三種 EPG 系統之輸出訊號原理，(8) 如何避免影響 EPG 之雜訊，(9) 研究半翅目昆蟲取食行為之 EPG 相關技術說明，(10) 以 EPG 研究葉蟬取食行為之相關應用，(11) 異翅亞目取食行為與 EPG 波形，(12) EPG 波形之定義與記錄，(13) EPG 波形之統計分析；實習課內容主題包括 (1) AC/DC EPG 主機與訊號輸出軟體說明；(2) EPG 試驗材料準備；(3) EPG 試驗所需金絲線圈種類說明與金絲架接之操作示範；(4) 以金絲架接蚜蟲前胸背板之實務操作；(5) 以金絲架接葉蟬前胸背板之實務操作；(6) 以金絲架接大型椿象前胸背板之實務操作；(7) 以 AC/DC EPG 蒐集蚜蟲之取食訊號波形；(8) 以 AC/DC EPG 蒐集葉蟬之取食訊號波形；(9) 定義與記錄 AC/DC EPG 之蚜蟲與葉蟬之取食訊號波形；(10) 以 SAS 統計軟體分析 AC/DC EPG 之蚜蟲與葉蟬取食訊號波形；(11) 自選一種蚜蟲或葉蟬，以 AC/DC EPG 系統及 SAS 統計軟體分析取食訊號波形；(12) AC/DC EPG 系統雜訊影響因子與狀況排除。以上課程共計歷經 11 個工作日 (7月21~26日；7月28日~8月1日)，每日 8~12 點為實習課，13~18 點為正課，18~20 點為學員或 Dr. E. A. Backus 與研習者共進晚餐時間。晚餐時間主要也是彼此討論當天課程問題或分享課後心得的時間，以確認本日學習成效。除此，8月4~5日下午，由 Dr. E. A. Backus 驗收本研習者之實習課成果，並回覆本研習者所提出之相關問題。

在上述課程之外，Dr. E. A. Backus 也提供其歷年蒐集的所有 EPG 英文研究報告予本研習者，共計 430 篇，此部份對於本研習者的研究將收事半功倍之效。

二、其他交流成果

本研習者於 8 月 1~6 日，晚上住宿於研習單位之 Dr. H. Lin 住宅，期間

向 Dr. Lin 請教葡萄皮爾斯病與黃龍病的相關研究，Dr. Lin 以其植物生理學與分子生物學專長，提出不少見解，對日後研究有相當助益。另在8月 4~5 日早上，本研習者拜訪該單位 Dr. R. Krugner 以雷射監測震動儀對葉蟬發聲之應用研究，並實地參訪該單位杏仁被 *Xylella fastidiosa* 感染的田間試驗病圃，瞭解此類病害的田間試驗設計規劃。

伍、檢討與建議事項

一、本次研習計畫原核定出國時間為 10.3 日 (含往返行程)，為能依計畫完成預設目標，並珍惜出國學習機會，行前已報請所方向農委會核備准予本研習者以自費公假方式，展延研習時間為 21 日。交流結果顯示引入新技術的出國研習，需有充份的學習、討論與成果驗收時間，以確保日後可將之順利引入台灣，此為經驗分享，提供同行參考。

二、農業試驗所已在 103 年度自辦計畫編列預算採購 AC/DC EPG 系統，目前已完成請購。為提升我方日後運用此系統進行刺吸式昆蟲取食行為的應用研究，本所進一步於 104 年之自辦計畫，編列預算邀請 Dr. E. A. Backus 來台進行合作交流，盼為我方建立媒介昆蟲傳病機制、抗蟲育種與抗藥檢測之跨國、跨領域與跨機關的研究團隊，有效縮短研究時程，降低研發成本，使之可解決目前產官學界急需解決之技術瓶頸。

三、未來我方可就國內學術或產業的相關研究缺口，邀請 Dr. H. Lin 與 Dr. R. Krugner 來台，分別分享「黃龍病國際合作」與「重要蟲媒病害媒介昆蟲防治新技術」兩重要課題，為我方與美國農部建立植物防檢疫科技研究計畫的合作基礎。

陸、附錄 (研習過程重要圖說)



圖1. 2014年至美國農部加州帕里爾分部研習：(A) Dr. Backus 將金絲 (直徑約 25~35 μm) 與銀膠沾黏至蚜蟲前胸背板的操作示範；(B) 已完成的活體樣本；(C) Dr. Cervantes以CO₂昏迷大型昆蟲的操作示範；(D) Dr. Backus 以幫浦吸蟲管將葉蟬活體固定的操作示範。



圖2. 2014 年至美國農部加州帕里爾分部研習：(A) EPG 連接昆蟲與植物之操作端設備；(B) EPG 操作端各類設定參數的使用面板；(C)第三代 EPG 發明者 Dr. E. Backus指導波紋判讀方法；(D) EPG 輸出端的電腦分析圖譜。

柒、參考文獻

- 于瑋臺、陳文龍。2012。刺探電位圖譜 EPG 技術在茶樹半翅目害虫上的應用及展望。山地農業生物學報 31(6): 552 - 556。
- 陳建明、俞曉平、程家安、呂仲賢、鄭許松、徐紅星。2002。定量研究刺吸式昆蟲取食行為的有效方法 - 電子取食監測儀的原理與應用技術。浙江農業學報 14(4): 237 - 243。
- 羅晨、岳梅、徐洪富、張芝利。2005。EPG 技術在昆蟲學研究的應用與進展。昆蟲學報 48(3): 437 - 443。
- Backus, E. A. 1994. History, development and applications of the electronic insect feeding monitor, pp. 1Ð 51. *In* M. M. Ellsbury, E. A. Backus, and D. L. Ullman [eds.], History, development, and application of AC electronic insect feeding monitors. Thomas Say Publications in Entomology: Proceedings. Entomological Society of America, Lanham, MD.
- Backus, E. A., and Bennett, W. H. 2009. The AC-DC Correlation Monitor: New EPG design with flexible input resistors to detect both R and emf components for any piercing-sucking hemipteran. *Journal of Insect Physiology* 55: 869 - 884.
- McLean, D. L., and Kinsey, M. G. 1964. A technique for electronically recording aphid feeding and 925 salivation. *Nature* 202 (4939): 1358 - 1359.
- Tjallingii, W. F. 1978. Electronic recording of penetration behaviour by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24: 721 - 730.
- Van Giessen., and Jackson, D. M. 1998. Rapid analysis of electronically monitored homopteran feeding behavior. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 91(1): 145-154.