

出國報告（出國類別：其他）

# 臺美昆蟲刺探電位圖譜(EPG)技術應用 研究之國際農業科技合作

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：106年5月16日至6月25日

報告日期：中華民國106年9月8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 106 年度國際農業合作領域之「臺美昆蟲刺探電位圖譜(EPG)技術應用研究之國際農業科技合作」計畫 (計畫編號 106農科-4.1.1-農-C1)，本計畫主要是至美國學習第 3 代昆蟲刺探電位圖譜 (Electrical penetration graph, 簡稱 EPG) 儀器之周邊完整配套研究技術，以為我國建立可獨立進行農作物抗蟲育種檢測、抗藥性檢測及植物與昆蟲間的相互關係之應用研究，以縮短研發時程，為友善環境耕作所需導入之抗蟲育種，及害蟲對藥劑的耐受行為延伸出之合理農藥劑量，建立更具科學化的研究基礎。本次出國研習期間自 106 年 5 月 16 日至 6 月 25 日，共計 41 日，研習地點為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)，研習成果包括：(1) 建立研究試驗過程保護人身與資訊安全觀念；(2) 在與EPG有關之生物組織切片技術部分，已學習運用低毒化學物質及快速切片製程，以大幅縮短試驗時程；(3) 參與 EPG 波譜判讀進階訓練，並學習機器雜訊排除與養護訓練，達到獨立自主研究目標；(4) 參訪研習中心及 UC Riverside 之昆蟲檢疫室，提供農業試驗所未來改善檢疫室功能的參考依據；(5) 實地參訪田間果樹害蟲之前瞻防治。以上在出國期間之實習成果，有助於大幅提升我國在媒介昆蟲傳病研究、水稻褐飛蝨或其他作物抗蟲育種之抗蟲檢測、關鍵害蟲抗藥性檢測等研究效率，並節省人力成本，進而加速此類研究成果於產業的加值應用。

關鍵詞：昆蟲刺探電位圖譜 (Electrical penetration graph)、作物害蟲 (crop pests)、組織切片技術 (histological technology)、波譜判讀 (waveform determination)。

## 目次

壹、目的 .....	4
貳、研習過程 .....	6
參、心得與建議 .....	10
肆、結論 .....	11

## 壹、目的：

我國在 2014 年前，學者探討目標作物品系對目標害蟲之抗性(含機械抗性或次級代謝產物之抗性等)能力、或探討目標害蟲對目標農藥之抗藥能力、或探討昆蟲之寄主範圍等研究之前，需將目標害蟲飼育在目標作物品系、或飼育在已施用目標藥劑之目標作物上，然後再記錄與分析目標害蟲之存活率與繁殖潛能等資訊，此傳統檢測方法雖具嚴謹與客觀的特性，但缺點就是需花費冗長時間或人力，方能獲得有限資訊。為建立快速縮短前述相關研究的試驗時程，農業試驗所已自 103 年自美國引進 AC-DC EPG 刺探電位圖譜監測儀 (AC-DC electrical penetration graph monitor, 以下簡稱 AC-DC EPG 監測儀)，並於 104 年聘請美國學者來台辦理 AC-DC EPG 監測儀操作與統計分析初級訓練班，為我國建立 EPG 監測儀在農業害蟲防治的基礎與應用研究。

本次出國主要目的，係於前期所建立的基礎上，出國研習 EPG 監測儀完整試驗所需之相關配套技術，為我國導入可運用在農業害蟲相關抗性檢測，且可大幅縮短試驗時程的研究技術。為此，本計畫主持人乃前往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) 的 Dr. Elaine A. Backus 研究室 (發明 AC-DC EPG 的科學家)，學習可以輔助解讀 EPG 波譜意義之動植物生物組織切片快速製作與判定技術、重要害蟲之主要 EPG 波譜分類 (例如 C 波為昆蟲口針取食維管束汁液的波譜行為) 及未知波譜之可能解決方法、電子干擾障礙排除訓練等。以上均已在本次出國研習期間予以完成，預期未來對於媒介昆蟲傳病、水稻抗褐飛蝨害蟲檢測以及關鍵害蟲抗藥性檢測等試驗研究，皆可大幅縮短試驗時程，降低研發成本 (縮短時間與人力的投入)，進而提高整體研究效能。除此，本次出國也為農試所執行農委會 107 年國際農業合作領域之「2018 強化作物關鍵有害生物整合管理之前瞻技術國際研討會」計畫，邀請美國具前瞻農業科技研發量能或往昔與國內合作並有成果之研究人員，擔任研討會演講者，分享有害生物整合管理前瞻防治技術及雙方國際合作成果，達到農委會期許國際合作領域計畫建立國際農業科技合作互惠與永續交流之政策目標。

## 貳、 研習過程

### 一、研習日程及內容摘要表

表一為本計畫主持人至美國農業部在加州帕里爾市之經瓦金谷農業研究中心的研習日程及內容摘要，詳細內容分項說明如下。

### 二、重要研習項目及其內容

#### 1. 進研習單位實驗室前之「試驗安全與資訊安全」測驗：

本次研習身份為 J1 visitor，應美國農部要求，進入所屬單位實驗室進行研究試驗前，需通過「試驗安全測驗」（含化學物質操作儲存與廢液處理、田野施藥、火災等意外災害應變、試驗區域防恐攻擊緊急應變、公務車使用規範等）與「資訊安全測驗」（含資訊安全定義、網路災害與應變處理等）。以上兩項測驗題目皆為選擇題，未及格即需重考。本計畫主持人至該單位辦理報到後，第 2~3 日已通過此兩項測驗。

#### 2. 學習「低毒與快速之生物組織切片配方與製程」，縮短 EPG 試驗時程：

在研習單位以葡萄及藍綠尖頭葉蟬 (*Graphocephala atropunctata* (Signoret), 本文簡稱 BGSS) 為材料，並分別以「傳統組織切片配方及方法」及「切片專用微波爐之快速組織切片配方及方法」，分別進行組織固定 (fixation)、脫水 (dehydration) 與石蠟浸潤置換 (infiltration)，比較兩方法的切片效果及所耗時間，結果顯示傳統切片總計花費 292.75 小時，但切片專用微波爐之快速組織切片僅需 2.6 小時，節省 112.6 倍時間。

以上兩種方法，經後續染色步驟及光學顯微鏡觀察，顯示兩者所處理之動、植物組織切片的細胞均非常清晰，顯示未來本所生物相關實驗室，若有縮短組織切片時程的需求，可考量引進切片專用微波爐技術予以進行共用。

除此，本次兩種方法所使用的化學藥劑配方，已揚棄傳統聚毒藥劑，改以安全低毒的醇類等溶劑，除了不影響試驗結果，亦能確保操作者安全。

#### 3. 「AC-DC EPG 波譜判讀進階訓練」及「EPG 波譜雜訊排除訓練」：

本次研習目標，尚包括判讀 AC-DC EPG 波譜進階訓練，所使用的材料包括本計畫主持人在台灣記錄之白邊大葉蟬（臺灣的葡萄皮爾斯病媒介昆蟲）與褐飛蝨（臺灣的水稻害蟲）的波譜，以及在研習單位所記錄之 BGSS 葉蟬（美國的葡萄皮爾斯病媒介昆蟲）波譜。

在波譜判定部分，以上三種昆蟲的波譜作為訓練基礎，瞭解我方在試驗過程所發現葉蟬與飛蝨的未知定義波譜及其所代表可能之生物學意義，並作為返國後可運用本次之切片方法或其他方法，作為解讀未知波譜的驗證。至於在排除 AC-DC EPG 儀器雜訊的訓練部分，則以 BGSS 葉蟬為測試材料，實機模擬我方試驗過程所產生的電子雜訊，以釐清雜訊的潛在因子，作為本計畫主持人返國後可自主修正的參考依據，使波譜準確性達到最高穩定度。

#### 4. 參訪研習單位及 UC Riverside 之昆蟲檢疫室：

由於研習單位所處地點並無美國葡萄皮爾斯病之 GWSS 葉蟬 (GWSS 葉蟬存在於研習單位南方城市，如貝克斯菲爾德市 (Bakersfield) 與德拉諾市 (Delano)；而前述的 BGSS 則存在於研習單位所處城市Parlier)，如果要在研習

單位研究其所處城市尚不存在的外來昆蟲，需在該中心之昆蟲檢疫室進行。

由於本計畫主持人亦為農業試驗所昆蟲檢疫室的管理者，故本次研習之前，也向美方人員提出參訪該中心昆蟲檢疫室之設施（如養蟲室、溫室、消毒室與工作室等）與空調系統，以及檢疫室對於外來昆蟲或天敵從事研究的所有作業流程，作為農試所檢疫室未來若有機會更新，可提出具體的改善建議。除此，返國前亦至美國農業害蟲之生物防治研究重鎮 UC Riverside，參訪該校之昆蟲檢疫室（管理者為 Prof. Serguei V. Triapitsyn），該室主要目標係提供國外害蟲生物天敵之隔離飼育與觀察中心，目標與農部略異，雖然該校限制拍照，但允許本計畫主持人進行參訪與提出問題，本次參訪發現其設備較農部更先進，其內部作業流程已達電子化管理，例如可透過遠距監控各室環境溫濕度及光照條件，並具遠距影像及資訊傳輸的管理，以具備電子化管理概念。

#### 5. 田野參訪蟲害防治試驗之前瞻技術：

為建立長久的台美農業科技之蟲害防治技術交流，研習期間向 Dr. Elaine A. Backus 提出田野參訪，以瞭解其同仁 Dr. Rodrigo Krugner 如何以「雷射震動儀」防治美國葡萄皮爾斯病媒介昆蟲 - 褐透翅尖頭大葉蟬 (*Homalodisca vitripennis* (Germar)，簡稱 GWSS)。獲兩人同意後，本計畫主持人於 6 月 15 日隨同 Dr. Rodrigo Krugner 及其實驗室成員，至加州之 Bakersfield 一處有機柑橘園，參觀運用雷射震動儀記錄 GWSS 成蟲交尾聲譜，此研究之應用係未來可利用人工合成聲譜，作為干擾田間害蟲交尾的方法，降低田間害蟲族群數量，以降低慣行農法的化學藥劑投入，或投入機農業防治害蟲。

「雷射震動儀」屬於前瞻防治技術，目前僅少數國家發展與應用，在美國的佛羅里達已有學者將之運用在柑橘黃龍病媒介昆蟲的田間防治。為此已邀請 Dr. Rodrigo Krugner 於2018年來台擔任研討會演講者，並攜帶機器於農試所應用動物組檢疫室及野外，進行室內與田間蒐集害蟲聲譜的應用測試，以協助我方研究人員瞭解此儀器於台灣應用的可行性。

#### 6. 其他交流：

櫻桃果蠅 (*Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931)) 為美國近年的外來入侵害蟲，但不存在於台灣，為讓我國瞭解此害蟲形態及分子資料，本計畫主持人藉本次研習機會，請住宿處單位 (The University of California's Kearney Research and Extension Center) 研究人員提供若干酒精浸泡標本，部份標本已提供農試所應用動物組邱一中聘用助理研究員及嘉義大學植醫系林明瑩助理教授研究，以建立相關資料。

另本次研習結束前，至 UC Riverside 拜訪 Prof. Serguei V. Triapitsyn (也是全球知名的葉蟬與飛蝨類害蟲之卵寄生蜂分類權威) 管理的檢疫室，並與其討論未來幾年擬共同合作發表之台灣果樹糧作葉蟬及飛蝨類害蟲之卵寄生蜂，以建立臺灣葉蟬與飛蝨之卵寄生蜂天敵應用資料。

表一 2017年5月16日至6月25日出國研習日程及內容摘要表

日期	工作內容/研習項目	授課者或接待者	住宿地點
5月16日(台灣時間) 5月16日(美國時間)	離境(台灣桃園機場) 抵達(美國Fresno機場)	Dr. Hong Lin & Dr. Elaine A. Backus 接機	Dr. Hong Lin's house
5月17日 (週三)	至本次研習單位(San Joaquin Valley Agricultural Sciences Center, Parlier, CA, USDA/ARS) 安排之住宿地點, 辦理住宿簽約及入住事宜。	Dr. Felix A. Cervantes	The University of California's Kearney Research and Extension Center, Parlier, CA, USA
5月18日 (週四)	1. 至本次研習單位辦理報到與簽署相關資料後, 領取J1 visitor 識別證及實驗室鑰匙。 2. 與Dr. E. A. Backus 確認本次研習訓練課程及野外參訪行程。	Dr. Elaine A. Backus, Dr. Felix A. Cervantes	
5月19日 (週五)	1. 完成核准實驗試相關試驗前所需通過之資訊安全測驗。 2. 領取單位配發之公用電腦, 並完成資安設定。	Dr. Elaine A. Backus, Dr. Felix A. Cervantes	
5月22日 (週一)	1. 完成核准實驗試相關試驗前所需通過之試驗(含化學物質、防災、開車、田間試驗與預防中暑等項目)安全測驗。 2. 參與研習單位實驗室主持人Dr. E. A. Backus 之實驗室討論會, 報告本次研習目的、預期進度與後續合作研究項目, 會後參訪研習期間需使用到的溫室、養蟲室、檢疫室、重要儀器室、化學物質儲存所與影印室等相關場所。 3. 與Dr. E. A. Backus 討論研習期間需要研讀之相關研究報告與書籍, 以作為完成研習前之相關試驗討論基礎。	Dr. Elaine A. Backus, Dr. Felix A. Cervantes, Ms. Jackie Van De Veire,	
5月23~26日 (週二至週五)	以「組織切片專用微波爐(Microwave)」進行葡萄葉部組	Ms. Jackie Van De Veire,	

	織切片操作訓練(以下簡稱快速切片方法)。	Dr. F. A. Cervantes,
5月29日~6月2日 (週一至週五)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.以傳統切片方法進行葡萄葉部組織切片，並與快速切片方法，進行結果與效能的比較。</li> <li>2.以綠尖頭大葉蟬(以下簡稱BGSS)為材料，自主進行快速切片。</li> <li>3.6月1日參加美國農部舉辦之 J1 學者網路視訊討論會(webinar)。</li> <li>4.研讀葡萄皮爾斯病及其媒介昆蟲的組織切片相關研究報告。</li> </ol>	Ms. Jackie Van De Veire, Dr. F. A. Cervantes,
6月5~9日 (週一至週五)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.以葡萄葉部組織及葉蟬為材料，進行快速切片之操作測驗，完成研習驗收成果。</li> <li>2. 研讀 AC-DC EPG 之葉蟬波譜相關研究報告。</li> <li>3. 完成以 AC-DC EPG 記錄 2 件 BGSS 葉蟬之 20 個小時的取食波譜記錄，並討論各類波譜判讀依據。</li> </ol>	Ms. Jackie Van De Veire, Dr. F. A. Cervantes,
6月12~14日 (週一至週三)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 參與研習單位實驗室主持人 Dr. E. A. Backus 之實驗室討論會，報告研習一個月之進度成果、心得、在台使用 AC-DC EPG 的研究瓶頸及未來預期之合作研究項目。</li> <li>2. 以在台灣從事葉蟬波譜研究的檔案，作為波譜類型判讀及統計方法的討論基礎。</li> </ol>	Dr. Elaine A. Backus, Dr. F. A. Cervantes, Ms. Jackie Van De Veire
6月15日 (週四)	1.與 Dr. Rodrigo Krugner 及其實驗室同僚，至加州中南部之貝克斯菲爾德市 (Bakersfield) 之有機柑橘園，進行以雷射震動儀及軟體，監測褐透翅尖頭大葉蟬(簡稱 GWSS)之聲音，以作為利用聲音干擾葉蟬之物理	Dr. Rodrigo Krugner

	<p>防治依據。</p> <p>2.於貝克斯菲爾德市 (Bakersfield) 至德拉諾市 (Delano) 間之柑橘園，調查 GWSS 之卵寄生蜂，以瞭解寄生蜂種類及寄生率。</p> <p>3.邀請 Dr. Rodrigo Krugner 於 2018 年至農試所參與國際研討會事宜。</p>		
6 月 16 日 (週五)	進行 AC-DC EPG 儀器之干擾源測試及解決方法訓練。	Dr. Elaine A. Backus, Dr. F. A. Cervantes	
6 月 19~21 日 (週一至週三)	<p>1.與 Dr. E. A. Backus 討論台灣之白邊大葉蟬(含在不同寄主之試驗)與水稻褐飛蝨之取食波譜記錄檔案，以瞭解波譜受輸入電阻、輸入電流及電訊放大等參數影響的程度，作為回台試驗修正的依據。</p> <p>2.在實驗室進行在台與在美 EPG 試驗之簡報 2 個小時。</p> <p>3.與 Kearney Research and Extension 之 Dr. X.</p>	Dr. Elaine A. Backus	
6 月 22~23 日 (週四至週五)	<p>1.至 UC Riverside 之昆蟲標本館、檢疫室進行參訪，並檢查美洲之大葉蟬亞科昆蟲及其卵寄生蜂天敵標本。</p> <p>2.討論本所 105 年度所送水稻飛蝨與葉蟬類之卵寄生蜂鑑定結果，並據此邀請 Prof. Serguei V. Triapitsyn 於 2018 年至農試所國際研討會呈現本國際合作成果之專題報告，以作為雙方日後合作研究我國水稻害蟲及其天敵事宜的基礎。</p>	Prof. Serguei V. Triapitsyn	Prof. Serguei V. Triapitsyn's house
6 月 24~25 日 (週六至週日)	返程		

### 參、心得與建議

依前項之重要研習項目，分項描述如下。

#### 1. 進研習單位實驗室前之「試驗安全與資訊安全」測驗：

美國農部研究機關相當重視試驗安全與資訊安全，此測驗適用於農部所有編制內員工、雇員及短工，凡新到單位者 (含J1 visitor)，均需通過測驗，方可開始操作實驗室的研究設備與電腦，做到詳實保障試驗者的生命及單位資料安全，此點值得我方研究機關及各大學學習。

#### 2. 低毒與快速之生物組織切片配方與製程：

本次研習所接觸的「切片專用微波爐」，具有大幅縮短組織切片時程的特性 (較傳統切片節省 112.6 倍時間)，且其使用的化學藥劑屬於低毒安全，大幅保障實驗操作者的健康。雖然最新型的「切片專用微波爐」價格達台幣 125 萬，但未來仍可仿科技部貴儀中心概念購置，提供機關學校付費使用。

#### 3. 「AC-DC EPG 波譜判讀進階訓練」及「EPG 波譜雜訊排除訓練」：

1964 年由美國加州大學戴維斯分校 (University of California, Davis) 之 Donald L. McLean 和 Marvin G. Kinsey 兩位學者發明第一代 EPG 監測儀。雖然 EPG 被發明以來已達 53 年，但卻鮮有專精的研究者，絕多數僅是短暫運用儀器發表報告，這與儀器可區辨波譜變化的精密程度有關。以目前主流的 DC EPG 為例，僅適用於蚜蟲、粉蝨與薊馬等小型昆蟲，但對於其他適用 AC 電流的葉蟬、飛蝨、木蝨與椿象等中小型昆蟲，卻無法呈現其波譜的顯著差異。

本計畫主持人引進 AC-DC EPG 進入我國的目的，包括 (1) 即便 EPG 被發明以來已達 53 年，但臺灣在第一作者於 2014 年引入之前，全國皆無任何研究人員有使用 EPG 的經驗，就算是昆蟲學教科書也從未提到，但這類儀器卻是許多國際知名抗蟲育種公司的秘密武器，因新型的 EPG 儀器已可有效判斷絕多數不具抗蟲性的品系，節省許多人力與試驗時間；(2) 目前 AC EPG 已停產，使用 DC EPG，對若干昆蟲有其限制性，而 AC-DC EPG 則可針對適用 AC 或 DC 電流的昆蟲，進行適用電流類型之功能切換，且具可放大波譜形態的參數設計，這也是為何往昔有許多未知波譜，因當時波譜無法放大而看不到變化，造成無法廣為應用，也造成多數的研究僅止於學術發表。有鑑於此，本計畫主持人本次研習目的係透過完整的學習，未來可將此儀器運用經驗與技術，傳承於相關研究人員，以加速相關研究。

#### 4. 參訪研習單位及 UC Riverside 之昆蟲檢疫室：

本計畫主持人為農業試驗所昆蟲檢疫室管理者，瞭解農試所的舊型檢疫室已無法符合現代的需求，故在出國研習前已向美方人員表達參訪昆蟲檢疫室的需求。本次參訪後，對農部10年前新設計的檢疫室，已整合溫室、消毒室與廢棄物清運室之一貫作業；至於 UC Riverside 的昆蟲檢疫室，雖其為舊建築，但內部監控管理與資訊建立，均達網路電子化，這些都是認為值得我國學習與改進。

#### 5. 田野參訪蟲害防治試驗之前瞻技術：

「雷射震動儀」於害蟲的防治應用，與 EPG 一樣，對我國都是新的技術，故本計畫主持人已在研習期間提出邀請 Dr. Rodrigo Krugner 於 2018 年至農試所報

告此儀器之應用原理與田間應用，讓國內學者瞭解此儀器之應用層面以及在台灣應用的可行性。

#### 6. 其他交流：

與 UC Riverside 的 Prof. Serguei V. Triapitsyn 合作過程，雙方雖然從未申請任何共同計畫進行合作研究，但雙方曾在 2014 年合作發表，本計畫主持人也曾於 2016 年邀請其至農試所昆蟲標本館，協助鑑定卵寄生蜂玻片標本，Prof. Serguei V. Triapitsyn 也在近年陸續將成果（含發表新物種），發表在臺灣昆蟲與臺灣農業研究等臺灣的科學期刊，屬於非常務實的國際學者，其在 2016 年也曾協助苗改場研究人員相關害蟲天敵鑑定案件，故本計畫主持人與其交流，屬於真正達到台美雙方互惠，並可提升我方研究量能的國際合作。有鑑於此，已邀請 Prof. Serguei V. Triapitsyn 於 2018 年至農業試驗所擔任國際研討會演講者，報告雙方合作研究成果，提供農委會國際合作領域發展台美農業昆蟲合作之參考模式。

#### 肆、結論

本計畫已根據計畫書核定本內容，完成出國研習，本研習成果有助於本計畫主持人有效完成 EPG 相關研究，並進行機關內跨單位合作，協助水稻抗蟲育種與重要害蟲之抗藥性檢測等研究，未來擬於農試所進行持續之 EPG 技術講習，期使技術可推廣至有研究需求的農委會所屬試驗場所及大學相關系所。除此，本次研習也頻與研習單位、The University of California's Kearney Research and Extension Center 及 UC Riverside 之昆蟲專家，進行農業害蟲及其天敵相關研究成果的分享，盼對未來台美雙邊農業科技合作交流有實質上的助益。