



進口糙米倉庫之米象及玉米象（鞘翅目：椰象鼻蟲科）對磷化氫之感受性調查

姚美吉、王泰權、馮文斌、李啟陽*

行政院農業委員會農業試驗所應用動物組 41362 台中市霧峰區中正路 189 號

* 通訊作者 email: CYLee@tari.gov.tw

收件日期：2022 年 1 月 12 日 接受日期：2022 年 3 月 16 日 線上刊登日期：2022 年 4 月 15 日

摘 要

米象 (*Sitophilus oryzae*) 及玉米象 (*Sitophilus zeamais*) 為我國進口糙米倉庫中常見的主要害蟲，糙米在貯藏期若害蟲嚴重發生，常導致穀物巨量損失。目前進口糙米儲藏期間之積穀害蟲發生主要以磷化氫 (phosphine) 燻蒸進行化學防治，農業試驗所自 108 年起協助農糧署進行進口糙米燻蒸效果評估，但自 110 年起發現進口糙米燻蒸次數、燻蒸失敗率、燻蒸後糙米經 40 天後再檢查出活蟲比率有上升的趨勢，因此推測積穀害蟲可能已經產生磷化氫抗藥性。本研究於各進口糙米倉庫採集米象及玉米象活成蟲，帶回實驗室以麥片飼養後，進行磷化氫感受性試驗，了解現行各地進口糙米倉庫中之米象及玉米象對磷化氫之感受性，以及抗藥性的發生情形。試驗結果顯示，部分進口糙米倉庫中米象品系對磷化氫已產生中高度抗藥性，其中新竹湖口、彰化二水、彰化花壇、彰化溪湖品系已發展出 15~36 倍的中度抗藥性，台南後壁品系之磷化氫抗藥性倍率更高達 50 倍；而玉米象則只發展出低程度的磷化氫抗藥性品系，最具抗性之台南隆田及台南安南品系僅只有 5~6 倍。為解決米象對磷化氫的抗藥性問題，未來將探討以磷化氫搭配各式氣體，提升磷化氫的防治效果，克服抗性品系造成磷化氫燻蒸效果下降之問題。

關鍵詞：米象屬、進口糙米倉庫、磷化氫抗藥性、半數致死濃度、抗藥性倍率。

前 言

稻米是國人最主要的糧食之一，是所有農作物之首，政府以往為了維護國內稻米農民收益，及顧慮糧食安全，會以含穎殼方式之稻穀型式貯藏，貯藏期間主要發生的害蟲為穀蠹 (*Rhyzopertha dominica* (Fabricius)) (Yao and Lo, 1992)。但自 2002 年我國加入世界貿易組織 (World Trade Organization, WTO) 後，開放讓國外稻米進口，部分由政府貯藏及運用，儲藏時間短則半年，長則超過二年。由於台灣氣候環境溫暖潮濕，加上現行進口糙米儲藏之倉

庫多為老舊肥料倉庫改建，倉庫環境通風不良，導致倉內溫度及濕度偏高，適合積穀害蟲的繁衍，造成進口糙米於儲藏期間，經常遭受積穀害蟲危害造成損失，其中又以米象屬 (*Sitophilus*) 害蟲危害最為嚴重 (Yao and Lee, 2014)。

米象 (*Sitophilus oryzae* (Linnaeus)) 及玉米象 (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) 為鞘翅目 (Coleoptera)、椰象鼻蟲科 (Dryophthoridae) 的昆蟲，屬於初級害蟲，主要為害糙米、白米、小麥、玉米等穀物，為全世界穀倉共通性害蟲，更為我國進口糙米倉庫中最主要的害蟲。成蟲以口器取食穀粒造

成深孔，並將卵產於其中，再分泌凝膠狀排泄物混合澱粉塊覆蓋，幼蟲孵化後在穀粒內部取食成長，其危害使穀物產生碎屑，成為角胸粉扁蟲 (*Cryptolestes ferrugineus* Stephens)、鋸胸粉扁蟲 (*Oryzaephilus surinamensis* Linnaeus)、背圓粉扁蟲 (*Ahasverus advena* (Waltl)) 等的食料，導致這些次級害蟲伴隨發生，進一步造成穀物嚴重損失。米象屬成蟲無法直接危害穎殼完整的稻穀，但是進口米通常以糙米或白米形式進口，害蟲可直接進行危害。此外，進口米常以噸袋方式運送及儲藏，其危害難由外觀察覺，等到危害徵狀出現時通常已經繁殖到一定數量，造成進口糙米嚴重損失。

目前進口糙米儲藏期間之積穀害蟲發生主要使用 57% 磷化鋁 (aluminum phosphide) 或 32% 磷化鎂 (magnesium phosphide) 片劑燻蒸進行化學防治，農糧署會依據農業試驗所提供之進口糙米害蟲數量月報表，作為是否啟動進口糙米磷化氫燻蒸的主要標準之一。磷化氫燻蒸完後，再透過檢查燻蒸前放置之包埋蟲及燻蒸後採樣之糙米中是否存在活蟲，作為業者燻蒸是否合格的基準。但是自 2021 年起發現進口糙米燻蒸次數、燻蒸失敗率、燻蒸後糙米經 40 天後再檢查出活蟲比率有上升的趨勢，因此推測積穀害蟲可能已經產生磷化氫抗藥性，導致磷化氫燻蒸殺蟲逐漸失效，同時燻蒸次數的增加，更會加重我國財政上的負擔。目前已有各國研究指出米象或玉米象已經發展出磷化氫抗藥性，這些國家包括澳洲 (Daglish *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2015; Holloway *et al.*, 2016; Nayak *et al.*, 2019)、越南 (Nguyen *et al.*, 2016)、中國 (Zeng, 1998)、印度 (Yasodha *et al.*, 2019)、希臘 (Agrafioti and Athanassiou, 2018; Agrafioti *et al.*, 2019)、摩洛哥 (Benhalima *et al.*, 2004)、巴西 (Pimentel *et al.*, 2009)，其中澳洲、越南更是我國進口糙米主要來源國，磷化氫抗性品系的米象或玉米象極有可能經由進口稻米輸入我國。

本研究室 110 年度於各進口糙米倉庫採集米象及玉米象成蟲，帶回實驗室以麥片飼養後，進行磷化氫抗藥性檢測，了解目前各地進口糙米倉庫之米象及玉米象品系對磷化氫抗藥性的發展程度，作為日後磷化氫燻蒸策略調整的參考，並逐步研擬後續相應的防治策略。

材料與方法

一、受試昆蟲品系

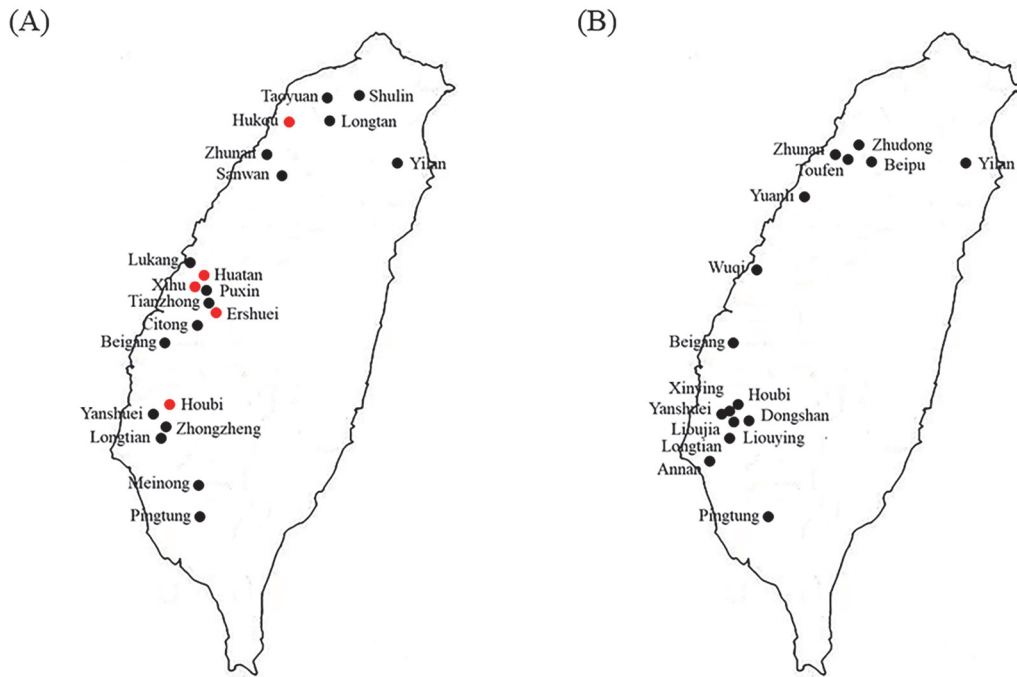
受試昆蟲種類為米象及玉米象，測試之磷化氫抗藥性品系蟲源包含本實驗室累代飼養之品系 (累代超過十年以上，飼養期間從未接觸任何藥劑) 及從各地進口糙米倉庫採集之蟲源 (圖一)，飼養至 F₁~F₃ 後進行試驗。所有受測品系皆以冷凍後之麥片作為食物，放置於養蟲盒內 (半徑 12 cm、高 5 cm) 飼養，飼育環境為 27 ± 2°C，相對溼度為 75 ± 10%，無光照。不分性別隨機選取 2~3 週齡之成蟲進行試驗。

二、磷化氫抗藥性測定

磷化鋁 (aluminum phosphide; 57%) 錠劑購自台灣嘉怡股份有限公司 (台中市)，是由德國 Detia Freyberg GmbH 工廠所製造之燻蒸劑。磷化氫抗藥性測定主要參照聯合國糧食及農業組織 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 建議之方法進行 (FAO, 1975)。首先在 20 L 氣密乾燥器 (產氣端) 內將 57% 磷化鋁錠劑放入含 5% 硫酸的廣口瓶內進行反應產生磷化氫 (phosphine) 氣體，另外將 30 隻受測昆蟲置入透氣布丁杯內後放入另一個氣密乾燥器中 (試驗端)，每個濃度進行至少二重複，等待 1.5 小時使產氣端之磷化鋁完全反應後，以氣密注射器從產氣端取所需劑量之磷化氫氣體注入試驗端，並以磷化氫專用檢測管及探測儀 (Uniphos Envirotronic Pvt Ltd, India) 測量試驗端之磷化氫濃度是否符合預期，於溫度 27 ± 1°C、濕度 75 ± 10% 下燻蒸 20 小時。燻蒸完畢後將試驗端之乾燥器蓋子打開並以抽氣櫃排出磷化氫氣體，隨後提供燻蒸後之受試昆蟲糙米作為飼料，再經過 24 小時後觀察受試昆蟲死亡數。為保護試驗人員健康及避免氣體外洩，以上試驗流程皆於抽氣櫃中進行，氣密乾燥器蓋子接縫以凡士林塗抹確保緊密貼合，同時放置磷化氫偵測器隨時監測磷化氫是否從氣密乾燥器外洩。

三、統計分析

以 SPSS (Statistical Products and Services Solutions) 統計軟體進行機率單位分析 (Probit analysis)，顯著水準為 5%，得出各米象及玉米象品系之磷化氫半數致死濃度 (Median lethal concentration, LC₅₀)。各品系之磷化氫 LC₅₀ 再與最低抗藥性之品系相除得到各品系抗藥性倍率 (resistance ratio)。



圖一 磷化氫感受性測試之象鼻蟲品系採樣地點 (A: 米象, B: 玉米象), 紅點代表該品系已發展中等磷化氫抗藥性。
 Fig. 1. Locations of weevil sample collection (A: *Sitophilus oryzae*, B: *Sitophilus zeamais*) for phosphine bioassay susceptibility in Taiwan. The red dots indicate the imported brown rice warehouses with the development of a moderate level of phosphine resistance.

結 果

針對台灣各地進口米倉庫採樣之米象及玉米象, 經藥劑試驗處理後, 米象各品系對磷化氫感受性及抗藥性比率詳列如表一, 結果顯示包含實驗室飼養品系及從全台 21 個地點採樣之米象品系對磷化氫的感受性, 北部共測試 6 個品系, 多數皆未發展高磷化氫抗藥性, LC_{50} 僅為 $1.8\sim 6.0 \mu\text{g L}^{-1}$, 唯有新竹湖口品系已發展出中度磷化氫抗藥性, 其 LC_{50} 為 $38.8 \mu\text{g L}^{-1}$ 、抗藥性倍率高達 25.87 倍; 中部共測試 8 個品系, 其中彰化花壇、彰化溪湖、彰化二水等三個品系米象已發展出中度磷化氫抗藥性, 其 LC_{50} 分別為 26.2、54.6、22.7 $\mu\text{g L}^{-1}$, 抗藥性倍率分別為 17.47、36.4、15.13 倍, 為抗藥性發生較頻繁的區域; 南部共測試 6 個品系, 多數皆未發展出高磷化氫抗藥性, LC_{50} 僅為 $2.3\sim 3.7 \mu\text{g L}^{-1}$, 唯有台南後壁品系已產生高度磷化氫抗藥性, 其 LC_{50} 為 $73.8 \mu\text{g L}^{-1}$ 、抗藥性倍率達 49.2 倍, 是目前測試品系中抗藥性發展最高的地點; 東部僅測試宜蘭 1 個品系, 其 LC_{50} 為 $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$, 甚至比起實驗室長期飼養品系之感受性更高, 為全台對磷化氫最敏感之品系。

玉米象對磷化氫感受性及抗藥性比率顯示如表

二, 目前共測定全台 17 個品系玉米象對磷化氫的感受性, 全台共測試 16 個品系, LC_{50} 為 $1.9\sim 11.7 \mu\text{g L}^{-1}$ 皆未發展出磷化氫抗藥性。全台玉米象對磷化氫抗藥性最高者發生在台南安南, 但其抗藥性倍率僅只有 6.16 倍, 仍屬於低度磷化氫抗藥性; 東部僅測試宜蘭 1 個品系, LC_{50} 為 $3.0 \mu\text{g L}^{-1}$, 屬於低度磷化氫抗藥性。

討 論

本研究發現部分進口糙米倉庫之米象確實對磷化氫已產生一定程度的抗藥性, 新竹湖口、彰化花壇、彰化溪湖及彰化二水等地的米象已經發展出中度磷化氫抗藥性, 抗藥性倍率為 15.13~36.40 倍, 而南部台南後壁的米象則已發展出高度磷化氫抗藥性, 抗藥性高達 49.2 倍, 為全台磷化氫抗藥性倍率最高的米象發生地點; 而玉米象則尚未發展出磷化氫抗藥性, 最高抗藥性發生在台南安南, 抗藥性倍率僅只有 6.16 倍, 同時我們也發現在米象發展高抗藥性之南部台南後壁之玉米象抗藥性倍率也僅有 1.25 倍。同樣為米象屬之米象及玉米象卻在磷化氫抗藥性發展上存在如此差異, 造成此現象的原因推測可能為兩種蟲之世代天數不同以及食性差異所導致

表一 進口糙米倉庫之米象對磷化氫感受性及抗藥性比

Table 1. Susceptibility and resistance ratios of *Sitophilus oryzae* strains to phosphine in the imported brown rice warehouses

Strain	N	LC ₅₀ (95% FL) $\mu\text{g L}^{-1}$	Slope	χ^2	df	RR-Lab ^a	RR-Lowest ^b
Laboratory	450	3.3 (2.9-3.9)	2.30	30.22	13	1.00	2.22
Northern							
Shulin	450	1.8 (1.4-2.3)	2.44	31.92	13	0.55	1.22
Taoyuan	330	6.0 (4.8-7.8)	1.41	13.42	9	1.82	4.04
Hukou	810	38.8 (35.3-42.4)	3.25	20.45	25	11.76	25.87
Longtan	450	2.6 (2.2-3.1)	5.12	39.33	13	0.79	1.76
Zhunan	450	3.5 (3.0-4.3)	2.90	2017.72	13	1.06	2.33
Sanwan	300	4.4 (3.4-5.7)	3.63	20.77	8	1.33	2.93
Central							
Lukang	300	2.8 (2.4-3.2)	4.23	8.17	8	0.85	1.87
Huatan	450	26.2 (21.2-35.2)	1.35	10.96	13	7.94	17.47
Xihu	810	54.6 (46.0-66.8)	1.57	14.50	25	16.55	36.40
Puxin	450	3.5 (3.2-3.9)	4.88	13.07	13	1.06	2.33
Tianzhong	330	2.4 (2.2-2.7)	4.65	4.771	9	0.73	1.60
Ershuei	540	22.7 (14.8-35.7)	3.00	65.21	16	6.88	15.13
Citong	450	2.2 (1.6-2.9)	2.25	35.46	13	0.67	1.49
Beigang	420	2.8 (2.5-3.2)	2.72	12.39	12	0.85	1.87
Southern							
Houbi	690	73.8 (54.5-114.0)	1.14	19.30	21	22.36	49.20
Yanshuei	360	3.0 (2.0-4.8)	1.29	20.62	10	0.91	2.02
Zhongzheng	300	2.3 (1.9-2.7)	2.30	241.11	8	0.70	1.53
Longtian	420	3.7 (2.9-4.7)	3.36	37.99	13	1.12	2.49
Meinong	450	2.6 (1.1-5.8)	2.61	208.00	13	0.79	1.76
Pingtung	450	2.3 (1.6-3.3)	2.14	335.85	13	0.70	1.56
Eastern							
Yilan	450	1.5 (0.9-2.2)	2.46	970.54	13	0.45	1.00

^a RR-Lab: Resistance ratio compared with laboratory strain^b RR-Lowest: Resistance ratio compared with the lowest

(Devi *et al.*, 2017)。一般世代較短之昆蟲較容易發展出高度抗藥性，米象一世代為 39 天，而玉米象則為 51 天，另外玉米象偏好之食物為玉米，在糙米中繁殖量比在玉米中還低 (Ojo and Omoloye, 2016)，其在糙米中之繁殖量及世代天數皆不利於抗藥性的發展，因此造成玉米象無法如米象發展出高磷化氫抗藥性。

一般情況下昆蟲會發展出高抗藥性之原因多為化學藥劑頻繁施用，導致族群選汰壓力上升造成之

結果。彰化花壇、彰化溪湖及彰化二水的倉庫在過去確實較常進行磷化氫燻蒸處理，因此如預期發展出磷化氫抗藥性，但是過去經常燻蒸之進口糙米倉庫 (宜蘭市、彰化和美、台南隆田、台南六甲、台南柳營等地) 並未如預期般發展出高磷化氫抗藥性，除部分倉庫由於其他因素導致磷化氫燻蒸效果不佳外，仍然有許多經常燻蒸的倉庫並未如預期發展出磷化氫抗藥性，但有些倉庫燻蒸不頻繁 (新竹湖口、台南後壁) 卻也發展出中度以上磷化氫抗性，造成

表二 進口糙米倉庫之玉米象對磷化氫感受性及抗藥性比
 Table 2. Susceptibility and resistance ratios of *Sitophilus zeamais* strains to phosphine in the imported brown rice warehouses

Strain	N	LC ₅₀ (95% FL) $\mu\text{g L}^{-1}$	Slope	χ^2	df	RR-Lowest ^a
Northern						
Zhudong	450	2.9 (2.6-3.3)	3.38	18.66	13	1.53
Zhunan	300	2.5 (2.2-2.7)	4.90	4.70	8	1.32
Toufen	450	2.6 (1.8-3.6)	2.77	15.47	13	1.37
Beipu	300	2.7 (1.6-4.5)	1.56	20.44	8	1.42
Yuanli	300	2.8 (2.3-3.3)	2.48	11.82	8	1.47
Central						
Wuqi	300	5.7 (4.3-7.2)	4.99	22.53	8	3.00
Beigang	450	2.0 (1.3-2.8)	2.55	20.32	13	1.05
Southern						
Houbi	450	3.5 (3.0-4.1)	1.98	19.22	13	1.25
Xinying	450	2.9 (2.0-4.0)	2.32	58.53	13	1.53
Yanshuei	450	4.6 (4.1-5.3)	2.94	14.45	13	2.42
Liouying	450	2.5 (1.5-3.7)	2.61	95.48	13	1.32
Dongshan	450	2.7 (2.4-3.1)	2.50	15.92	13	1.42
Lioujia	450	1.9 (1.7-2.1)	2.80	16.28	13	1.00
Longtian	450	10.1 (8.8-11.8)	1.92	16.24	13	5.32
Annan	450	11.7 (9.6-15.1)	1.79	6.18	13	6.16
Pingtung	450	3.1 (2.3-3.9)	2.12	31.40	13	1.63
Eastern						
Yilan	450	3.0 (2.7-3.3)	4.88	14.12	13	1.58

^a RR-Lowest: Resistance ratio compared with the lowest

此現象的原因，推測可能為當初此批號糙米進口時已存在有磷化氫抗藥性個體。

目前主要糙米進口國為美國、澳洲及越南等，其中澳洲及越南均已有研究指出其米象或玉米象已經發展出磷化氫抗藥性 (Daglish *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2015; Holloway *et al.*, 2016; Nguyen *et al.*, 2016; Nayak *et al.*, 2019)。這些害蟲在國外已經具有抗藥性，再透過貨運方式進口到台灣，且在貨櫃或輸出國當地燻蒸處理後並未被殺死，而進入國內進口糙米倉庫，導致燻蒸不頻繁的進口糙米倉庫出現高抗性倍率之米象，惟目前發生抗藥性之倉庫地點的進口糙米批號並不相同，但是同樣都源自美國進口，但美國尚未有文獻發表其米象或玉米象已發展出抗藥性。磷化氫抗藥性之米象是否是從國外輸入我國，未來將透過親緣關係分析比

對國內抗藥性品系及主要進口國之品系，了解抗藥性昆蟲之源頭。

全球大量廣泛使用磷化氫的情況下，Champ and Dyte (1976) 指出「全球可能已有 10% 的積穀害蟲族群具有磷化氫抗性個體存在」，除了米象及玉米象外，許多研究報告也顯示其他積穀害蟲也已發展出高磷化氫抗藥性，包括穀蠹、擬穀盜 (*Tribolium castaneum* (Herbst))、角胸粉扁蟲、鋸胸粉扁蟲、背圓粉扁蟲、菸甲蟲 (*Lasioderma serricornis* (Fabricius))、穀粉茶蛀蟲 (*Liposcelis bostrychophila* Badonnel)、小紅鯉節蟲 (*Trogoderma granarium* Everts) (Collins *et al.*, 2017; Parasian *et al.*, 2018; Agrafioti *et al.*, 2019; Mangoba and Alvindia, 2021; Wakil *et al.*, 2021)，其中擬穀盜、角胸粉扁蟲、鋸胸粉扁蟲、背圓粉扁蟲

亦是國內進口糙米經常需要以磷化氫燻蒸處理的害蟲，這些害蟲於國內進口糙米倉庫是否也發展出磷化氫抗藥性，也是未來值得探討的議題之一。

積穀害蟲之磷化氫抗藥性已知機制包括二氫硫辛醯胺脫氫酶 (dihydroliipoamide dehydrogenase, DLD) 結構改變、降低呼吸率、主動排出磷化氫、解毒酵素基因過量或上調表現。二氫硫辛醯胺脫氫酶是粒線體中多種複合酵素 (細胞色素氧化酶、過氧化氫酶等) 的組成成分之一，磷化氫透過抑制 DLD 而影響粒線體內酵素活性，導致三羧酸循環 (Tricarboxylic acid cycle, TCA cycle) 中斷而降低能量的產生、過氧化氫累積會造成生理中毒。目前研究顯示昆蟲控制磷化氫抗藥性之基因為 *rph1* 和 *rph2*，當這兩個基因個別單獨突變僅會表現出弱抗藥性 (4~25 倍)，但是當兩者同時突變時，則會出現協同作用 (synergism) 而表現強抗藥性 (超過 240 倍)。目前 *rph1* 基因功能尚未明瞭，而 *rph2* 基因則是負責調控產生 DLD，因此 *rph2* 基因突變會導致 DLD 結構改變，使磷化氫進入蟲體後無法和 DLD 結合，進而減少活性氧產生及維持 TCA cycle 正常運作，產生磷化氫抗藥性 (Zuryn *et al.*, 2008; Schlipalius *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2015; Nguyen *et al.*, 2016)；此外，磷化氫係透過呼吸進入蟲體而產生致毒效果，而磷化氫抗藥性昆蟲能夠透過降低呼吸率，減少磷化氫吸收，進而產生對磷化氫之抗藥性，這些現象在玉米象、穀蠹、擬穀盜及穀粉茶蛀蟲都有相關研究報告 (Nakakita and Kuroda, 1986; Pimentel *et al.*, 2007, 2009)。再者，磷化氫透過呼吸進入蟲體抵達作用目標發揮殺蟲效果，但若磷化氫在抵達作用目標前就被排出體外則無法造成預期的殺蟲效果，利用放射性 ^{32}P 製成之磷化氫燻蒸對磷化氫具抗藥性及感性之昆蟲活蟲及死蟲，發現死蟲比活蟲體內磷化氫含量更高，抗性品系比起感性個體體內之磷化氫含量較低，推測可能是因為抗性活蟲具有主動排除磷化氫之能力，但是確切機制尚未完全明瞭 (Price, 1984; Chaudhry and Price, 1992; Pratt, 2003)。而細胞色素 P450 (Cytochrome P450) 是昆蟲中重要的解毒酵素之一，能夠氧化代謝進入體內之有毒物質，近年研究指出對磷化氫具抗藥性的積穀害蟲之細胞色素 P450 基因有過量表現或上調的情況發生，此現象已於穀蠹 (Yang *et al.*, 2018) 及擬穀盜 (Oppert *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2020) 被發現，推測細胞色素 P450 可能具有代謝磷化氫的功能，但確切機制還不清楚。

避免昆蟲抗藥性發生遠比防治已發展出抗藥性的昆蟲來得重要，善用非農藥防治資材 (防蟲網、LED 誘蟲器等)，延緩積穀害蟲抗藥性的發展乃是治本方法之一。倉庫完整的密閉性也是需要注意的問題，Newman (2010) 指出倉庫密閉性不佳造成磷化氫燻蒸濃度不足，有可能篩選出許多弱磷化氫抗藥性的昆蟲個體，這些弱抗藥性個體經交配後，可能產下強抗藥性個體，因此定期修補倉庫破洞、地碎地板、封閉排氣孔、防治老鼠減少燻蒸帆布破洞，使磷化氫燻蒸殺蟲處理得以完全，也有助於減緩積穀害蟲磷化氫抗藥性之發展速度。另外確實了解進口糙米於輸出國當地或貨櫃之磷化氫燻蒸是否進行確實，透過進口米在輸入台灣之進口檢疫時，進行取樣調查以確定是否存在活蟲，避免抗藥性昆蟲從國外引進，這也是需要落實的重要管制措施，將有助於磷化氫抗藥性發生關鍵因子的探討。

目前針對昆蟲發展磷化氫抗藥性的解決方法包括降低藥劑施用頻率、使用不同作用機制之替代藥劑、高溫提升磷化氫燻蒸效果、低濃度長時間磷化氫燻蒸處理、額外添加氣體提升磷化氫燻蒸效果等。研究中之其他燻蒸藥劑則有臭氧 (ozone)、環氧丙烷 (propylene oxide)、氰化氫 (hydrogen cyanide)、羰基硫 (carbonyl sulfide)、甲酸乙酯 (ethyl formate)、硫醯氟 (sulfuryl fluoride)、碘甲烷 (methyl iodide)、植物精油 (plant essential oil) 等，但是上述燻蒸劑由於價格較磷化氫貴、大範圍施作困難、代謝物對環境有害等問題，多數都只停留在實驗室試驗階段，而尚未走向實倉使用 (Boopathy *et al.*, 2021)，再加上上述藥劑未登記於我國積穀害蟲防治使用，如要使用得經過繁雜的藥劑登記流程，因此短期間較難取代磷化氫成為我國實倉替代燻蒸劑。高溫能提高昆蟲呼吸作用，進而增加吸入磷化氫的量 (Nayak and Collins, 2008)，但是目前進口糙米倉庫多數為常溫倉庫，要將倉庫環境調整成高溫所需之設備及成本較高，且高溫對於儲藏物及磷化氫燻蒸施作具一定燃燒危險係數，因此不建議採用。磷化氫殺蟲效果與燻蒸濃度及時間有一定關聯性，但是提升燻蒸濃度並不是最佳處理抗藥性發展的方法，Collins *et al.* (2001) 指出提高磷化氫濃度，對於已發展抗藥性之米象、穀蠹並沒有較佳的殺蟲效果，反而是透過低濃度長時間燻蒸處理，對於抗藥性昆蟲殺蟲效果比較好，未來可以朝這方向去進行相關研究探討。額外添加氣體提升磷化氫燻蒸效果方面，已有許多研究指出磷化氫燻蒸時額外添加氧氣 (Liu, 2011)、二氧化碳 (Athié *et al.*, 1998;

Manivannan *et al.*, 2016; Constantin *et al.*, 2020)、氮氣 (Sakka *et al.*, 2020) 等氣體，有助於提升磷化氫對抗性品系的殺蟲效果，未來將朝此方向進行相關研究。

誌 謝

本研究進行期間承蒙本所李錦霞、洪桂香小姐協助試驗；文成後，復承陳健忠博士不吝撥冗斧正，謹此一併致謝。本研究接受農糧署委託辦理積穀害蟲磷化氫抗藥性之探討及對策計畫之經費補助進行研究。

引用文獻

- Agrafioti P, Athanassiou CG.** 2018. Insecticidal effect of contact insecticides against stored product beetle populations with different susceptibility to phosphine. *J Stored Prod Res* 79: 9-15.
- Agrafioti P, Athanassiou CG, Nayak MK.** 2019. Detection of phosphine resistance in major stored-product insects in Greece and evaluation of a field resistance test kit. *J Stored Prod Res* 82: 40-47.
- Athié I, Gomes RA, Bolonhezi S, Valentini SR, De Castro MP.** 1998. Effects of carbon dioxide and phosphine mixtures on resistant populations of stored-grain insects. *J Stored Prod Res* 34: 27-32.
- Benhalima H, Chaudhry MQ, Mills KA, Price NR.** 2004. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. *J Stored Prod Res* 40: 241-249.
- Boopathy B, Rajan A, Radhakrishnan M.** 2021. Ozone: An alternative fumigant in controlling the stored product insects and pests: A status report. *Ozone Sci Eng*: 1-17. doi: 10.1080/01919512.2021.1933899
- Champ BR, Dyte CE.** 1976. Report of the FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. FAO.
- Chaudhry MQ, Price NR.** 1992. Comparison of the oxidant damage induced by phosphine and the uptake and tracheal exchange of ^{32}P -radiolabelled phosphine in the susceptible and resistant strains of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *Pestic Biochem Physiol* 42: 167-179.
- Chen Z, Schlipalius D, Opit G, Subramanyam B, Phillips TW.** 2015. Diagnostic molecular markers for phosphine resistance in U.S. populations of *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica*. *PLoS ONE* 10: e0121343.
- Collins PJ, Darglish G, Nayak MK, Ebert P, Schlipalius D, Chen W, Pavic H, Lambkin TM, Kopittke R, Bridgeman B.** 2001. Combating resistance to phosphine in Australia. In: Danahaye EJ, Navarro S, Leesch JG (eds) *Proceeding of International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products*; 2001 Oct 29-Nov 3, Fresno, CA. Executive Printing Services, Clovis, CA, USA. pp: 593-607.
- Collins PJ, Falk MG, Nayak MK, Emery RN, Holloway JC.** 2017. Monitoring resistance to phosphine in the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*, in Australia: A national analysis of trends, storage types and geography in relation to resistance detections. *J Stored Prod Res* 70: 25-36.
- Constantin M, Jagadeesan R, Chandra K, Ebert P, Nayak MK.** 2020. Synergism between phosphine (PH_3) and carbon dioxide (CO_2): Implications for managing PH_3 resistance in rusty grain beetle (Laemophloeidae: Coleoptera). *J Econ Entomol* 113: 1999-2006.
- Darglish GJ, Nayak MK, Pavic H.** 2014. Phosphine resistance in *Sitophilus oryzae* (L.) from eastern Australia: Inheritance, fitness and prevalence. *J Stored Prod Res* 59: 237-244.
- Devi SR, Thomas A, Rebijith K, Ramamurthy V.** 2017. Biology, morphology and molecular characterization of *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J Stored Prod Res* 73: 135-141.

- FAO (Food and Agriculture Organization).** 1975. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides-tentative method for adults of some major pest species of stored cereals, with methyl bromide and phosphine. FAO Method No. 16. FAO Plant Prot Bull 23: 12-25.
- Holloway J, Falk M, Emery R, Collins PJ, Nayak MK.** 2016. Resistance to phosphine in *Sitophilus oryzae* in Australia: A national analysis of trends and frequencies over time and geographical spread. J Stored Prod Res 69: 129-137.
- Liu, YB.** 2011. Oxygen enhances phosphine toxicity for postharvest pest control. J Econ Entomol 104: 1455-1461.
- Mangoba MAA, Alvindia DG.** 2021. Phosphine resistance in psocid, *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera) in the Philippines. Int J Trop Insect Sci 41: 439-445.
- Manivannan S, Koshy GE, Patil SA.** 2016. Response of phosphine-resistant mixed-age cultures of lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F.) to different phosphine-carbon dioxide mixtures. J Stored Prod Res 69: 175-178.
- Nakakita H, Kuroda J.** 1986. Differences in phosphine uptake between susceptible and resistant strains of insects. Pestic Sci 11: 21-26.
- Nayak MK, Collins PJ.** 2008. Influence of concentration, temperature and humidity on the toxicity of phosphine to the strongly phosphine-resistant psocid *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Psocoptera: Liposcelididae). Pest Manag Sci 64: 971-976.
- Nayak MK, Kaur R, Jagadeesan R, Pavic H, Phillips TW, Daghli GJ.** 2019. Development of a quick knockdown test for diagnosing resistance to phosphine in *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae), a major pest of stored products. J Econ Entomol 112: 1975-1982.
- Newman C.** 2010. A novel approach to limit the development of phosphine resistance in western Australia. Julius-Kühn-Archiv 425: 1038-1044.
- Nguyen TT, Collins PJ, Ebert PR.** 2015. Inheritance and characterization of strong resistance to phosphine in *Sitophilus oryzae* (L.). PloS ONE 10: e0124335.
- Nguyen TT, Collins PJ, Duong TM, Schlipalius DI, Ebert PR.** 2016. Genetic conservation of phosphine resistance in the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.). J Hered 107: 228-237.
- Ojo JA, Omoloye AA.** 2016. Development and life history of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on cereal crops. Adv Agric 2016: 1-8.
- Oppert B, Guedes RN, Aikins MJ, Perkin L, Chen Z, Phillips TW, Zhu KY, Opit GP, Hoon K, Sun Y.** 2015. Genes related to mitochondrial functions are differentially expressed in phosphine-resistant and-susceptible *Tribolium castaneum*. BMC Genomics 16: 1-10.
- Parasian F, Trisyono YA, Martono E.** 2018. Resistance of *Ahasverus advena* and *Cryptolestes ferrugineus* to phosphine on imported cocoa beans from Cameroon, Ivory coast, and Dominican republic. J Perlindungan Tanaman Indonesia 22: 173-180.
- Pimentel MAG, Faroni LRD'A, Tótola MR, Guedes RNC.** 2007. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. Pest Manag Sci 63: 876-881.
- Pimentel MAG, Faroni LRD'A, Guedes, RNC. Sousa, AH, Tótola, MR.** 2009. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). J Stored Prod Res 45: 71-74.
- Pratt SJ.** 2003. A new measure of uptake: Desorption of unreacted phosphine from susceptible and resistant strains of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). J Stored Prod Res 39: 507-

520.

- Price N.** 1984. Active exclusion of phosphine as a mechanism of resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *J Stored Prod Res* 20: 163-168.
- Sakka MK, Gatzali F, Karathanos VT, Athanassiou CG.** 2020. Effect of nitrogen on phosphine-susceptible and-resistant populations of stored product insects. *Insects* 11: 885.
- Schlipalius DI, Valmas N, Tuck AG, Jagadeesan R, Ma L, Kaur R, Goldinger A, Anderson C, Kuang J, Zuryn S.** 2012. A core metabolic enzyme mediates resistance to phosphine gas. *Science* 338: 807-810.
- Wakil W, Kavallieratos NG, Usman M, Gulzar S, El-Shafie HA.** 2021. Detection of phosphine resistance in field populations of four key stored-grain insect pests in Pakistan. *Insects* 12: 288.
- Wang K, Liu M, Wang Y, Song W, Tang P.** 2020. Identification and functional analysis of cytochrome P450 CYP346 family genes associated with phosphine resistance in *Tribolium castaneum*. *Pestic Biochem Physiol* 168: 104622.
- Yao MC, Lo KC.** 1992. Insect species and population densities in stored japonica rice in Taiwan. *Chinese J Entomol* 12: 161-169. (in Chinese)
- Yao MC, Lee CY.** 2014. Survey of insect pests in imported bulk grain in Taiwan. *Formosan Entomol* 33: 271-280. (in Chinese)
- Yang J, Park JS, Lee H, Kwon M, Kim GH, Kim J.** 2018. Identification of a phosphine resistance mechanism in *Rhyzopertha dominica* based on transcriptome analysis. *J Asia-Pac Entomol* 21: 1450-1456.
- Yasodha P, Karpagam M, Senthil P, Justin CGL, Masilamani P, Mohankumar S.** 2019. Documentation of phosphine resistance in red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst (Tenebrionidae, Coleoptera) and rice weevil, *Sitophilus oryzae* Linn (Curculionidae, Coleoptera) in Tamil Nadu, India. *Int J Curr Microbiol App Sci* 8: 1426-1433.
- Zeng L.** 1998. Development and countermeasures of phosphine resistance in stored grain insects in Guangdong of China. In: Jin Z, Liang Q, Liang Y, Tan X, Guan L (eds). *Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection*, 1998 Oct 14-19; Beijing, China: Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, China. pp 642-647.
- Zuryn S, Kuang J, Ebert P.** 2008. Mitochondrial modulation of phosphine toxicity and resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Toxicol Sci* 102: 179-186.

Phosphine Susceptibility in *Sitophilus oryzae* and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Dryophthoridae) Strains from Imported Brown Rice Warehouses

Me-Chi Yao, Tai-Chuan Wang, Wen-bin Feng, and Chi-Yang Lee*

Applied Zoology Division, Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Taichung City, Taiwan

* Corresponding email: CYLee@tari.gov.tw

Received: 12 January 2022 Accepted: 16 March 2022 Available online: 15 April 2022

ABSTRACT

Sitophilus oryzae and *Sitophilus zeamais* are the most common insect pests in imported brown rice warehouses in Taiwan. Brown rice severely infested by these weevil species results in huge grain losses. Since 2019, the Agriculture and Food Agency, with assistance from the Agricultural Research Institute, has assessed the effectiveness of fumigation in protecting imported brown rice from pests. From 2020 onward, the fumigation times and failure rates increased, with the detection of a high number of live insects in the stored brown rice. Therefore, we speculated that the pests in stored brown rice may have developed resistance to phosphine. Because *S. oryzae* and *S. zeamais* are the most common insect pests in imported brown rice, we collected live adults of these species from the imported brown rice warehouses, kept them in a laboratory with oatmeal fed to them, and assessed their susceptibility to phosphine to evaluate their phosphine resistance development. The results revealed that some *S. oryzae* strains from the warehouses developed medium-to-high degrees of resistance to phosphine. The strains from the Hukou Township, Ershui Township, Huatan Township, and Xihu Township warehouses developed moderate phosphine resistance, with a 15- to 36-fold resistance ratio. The phosphine resistance ratio in the Houbi District strain was as high as 50-fold. By contrast, the *S. zeamais* strains did not develop such high phosphine resistance, with the highest resistant ratios being only 5- to 6-fold in the Longtian Village and Annan Township strains. Considering the phosphine resistance in *S. oryzae*, we will evaluate the effectiveness of phosphine combined with various gases in the control of these pests in the future.

Key words: *Sitophilus*, Imported rice warehouse, Phosphine resistance, Median lethal concentration, Resistance ratio