中華農業研究（Jour. Agic. Res. China）36(3)：331～334（1987）

微小昆蟲卵之染色觀察法[1]

呂 鳳 鳴[2]

摘要：多種產卵於葉肉組織內之害蟲如潛蠅類、薊馬類其產卵量之觀察不易，本文用1%酸性洋紅液及乳酸酚—酸性洋紅液染色後，可在解剖顯微鏡下清晰觀察雌蟲產卵量。前者無毒且價廉，對埋於葉肉組織（厚、薄葉類）之卵的染色效果很好，其卵呈暗紅色；但其需較長之處理時間。後者配方爲酚：乳酸：蒸餾水：甘油以1：1：1：2之比例配或250ml之溶液，再加入0.25g之酸性洋紅；其染色效果更加明顯，卵呈紫紅色。但因其中酚具毒性及腐蝕性，且價格較昂，當需短時間內得知結果時，可使用水浴加熱法，適用於少量調查或薄葉類染色時，若大量調查或厚葉類染色時，爲恐加熱時間太長有欠安全，故改用浸泡法進行，個人可視情況加以選用。

近年來本省許多微小昆蟲如潛蠅類、薊馬類之經濟重要性逐漸升高，國人亦有研究其基本生活史及生態之報告[1,2,3,4]。但因此類蟲體微小，室內飼育不易，其卵粒又多埋於葉肉組織或花瓣中，致使肉眼不易觀察。以往一般用幼、若蟲之孵化數來推算其原母蟲之產卵量[10,12]，但因有的作物對卵之孵化有抑制作用[14,15]，因而無法確知雌蟲之產卵量。1942年Curtis以甲基紅（methyl red）進行馬鈴薯葉蟬，*Empoasca fabae*（Harris）卵之染色[5]，1967年 Everett及Trahan 將水稻植株浸泡在酒精中的方法來觀察稻象蚧 *Lissorhoprus oryzophilus*（Kuschel）之卵粒[6]，但浸泡時間一長植物組織和卵之顏色十分相近而不易區分，因而誤差很大，耗損工作人員精神及時間。1969年 Gifford和Trahan將1937年Goodey 提出植物根部線蟲之染色法[8]加以應用到稻象蚧及葉蟬卵之染色上[7]，1982年Parrella做蕃茄等潛蠅*Liriomyza tifolii*（Burgess）卵之染色[11]，其均以乳酸酚—酸性洋紅（Lactophenol-acid fuchsin）液做爲染色液，本文係將此法應用於瓜類、蔬菜類及果樹上潛蠅及薊馬類卵之染色；再與1986 Khan 及Saxena以1%酸性洋紅（acid-fuchsin）液來染兩種水稻飛蝨 *Nilaparvata lugens*（Stal.），*Sogatella furcifera*（Horvath）及一種葉蟬 *Nephotettix virescens*（Distant）之卵的方法[9]，加以比較應用。使埋於葉肉組織內害蟲類之卵清晰可見，方便對此類害蟲生活史方面之觀察與研究。

材料和方法

一、染色液種類及配方：

（A）1%酸性洋紅液（acid-fuchsin）

（B）乳酸酚—酸性洋紅液（Lactophenol-acid fuchsin）

酚：乳酸：蒸餾水：甘油＝1：1：1：2，配成250ml溶液後加0.25g之酸性洋紅。

---

1 臺灣省農業試驗所 研究報告第 1367 號。文承李主任錫山斧正試驗期間並承黃益美小姐之協助，謹表謝忱。

2.本所鳳山熱帶園藝試驗分所植保系助理。臺灣省 高雄縣 鳳山市。

二、方法及步驟：

(a) 薄葉類：

至田間採集有薊馬或潛蠅等爲害之苦瓜（葉、花）、甘藍菜、葱等，直接浸在1%酸性洋紅液或乳酸酚—酸性洋紅液中，前者浸泡1—2天；後者以水浴法加熱3～5分鐘，冲却後以水冲去多餘之染色液，在雙筒解剖顯微鏡（40X）下觀察。

(b) 厚葉類：

採集腹鉤薊馬，*Rhipiphorothrips cruentatus Hood* 之雌、雄成蟲並飼育於固定之夾式壓克力片中，數天後由懸掛於各種果樹（蓮霧、芭樂、楊桃、檬果等）上之壓克力片中取下各可能被產卵之葉片，攜回實驗室，進行染色。各種葉片每次做五片，重複多次。各葉片先以蒸餾水加熱5分鐘，移入95%酒精中泡1—3天，以除去葉綠素等，若酒精液色呈濃綠色則需更換之。以清水冲洗乾淨，再投入乳酸酚—酸性洋紅液浸泡2—3天，兩者方法分別染色後以清水冲去多餘之染色液，再用顯微鏡觀察之。

結果與討論

本試驗是先以乳酸酚—酸性洋紅液來進行葱薊馬 *Thrips tabaci* L. ，甘藍菜潛蠅 *Liriomyza brassica* (Riley) ，瓜類南黃薊馬*Thrips palmi* Karny等卵之染色，其結果見圖1（a、b、c）。

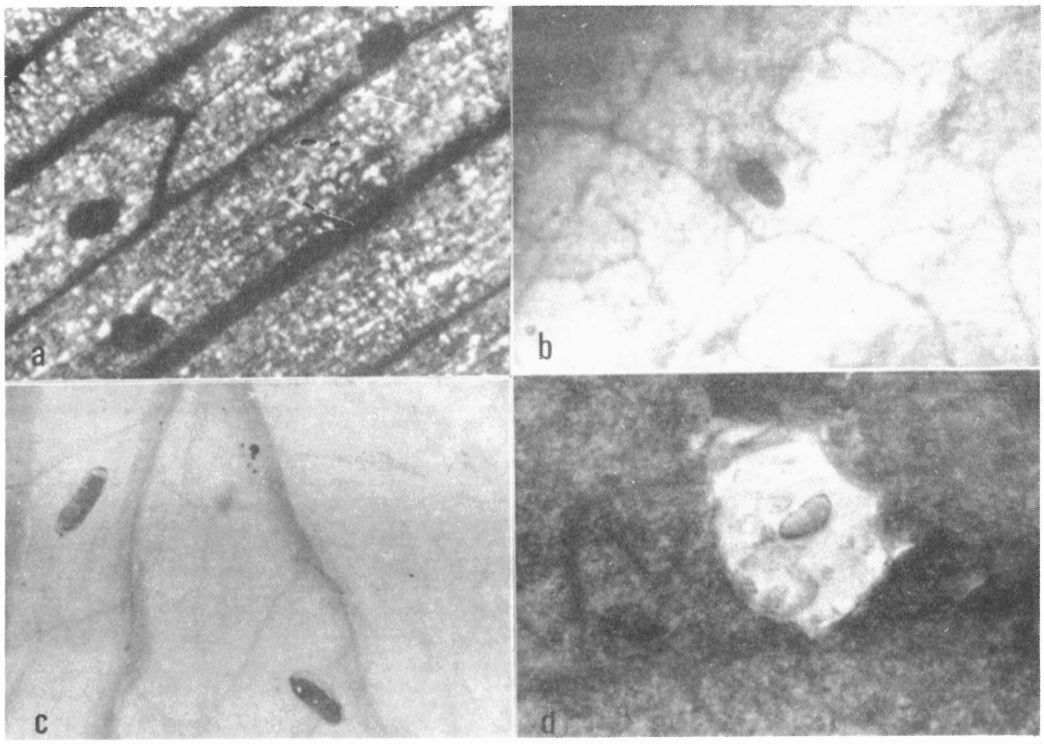


Fig. 1. Stain of different insect eggs imburied in plant tissues.
- a. Eggs of *Thrips tabbci* Lindeman stained with lactophenol acid fuchsin solution.
- b. Eggs of *Liriomyza brassicae* (Riley) stained with lactophenol acid fuchsin solution.
- c. Eggs of *Thrips palmi* Karny stained with lacophenol acid fuchsin solution.
- d. Eggs of *Rhipiphorothrips cruentatus* Hood stained with 1% aqueous acid fuchsin solution.

圖一、葉肉組織內卵染色之觀察。

染色後之葉片用底部打光之解剖顯微鏡（40X）即可輕易辨識各卵粒之位置及數目，若將上層葉肉挑開，更可見鮮明紫紅色之卵粒。薄葉類植物，在染色液中加熱的時間較短，僅3－5分鐘即可。但厚葉類植物如蓮霧等，需經酒精脫色等步驟，且在染色液中加熱時間較長約10—15分鐘，因其中酚具神經毒及腐蝕性[13]，而加熱時異味瀰漫，汚染空氣與環境，若大量調查時，使用加熱法對工作人員有所傷害，故宜選用浸泡法，將葉片投入乳酸酚—酸性洋紅液中浸泡2－3天再予觀察。或改用 Khan 及Saxana 之方法，用1％酸性洋紅液來浸泡2－3天，經此染色後之卵粒爲暗紅色，亦甚明顯，見圖1 d. 兩種染色液之比較見表一，如250ml之1％酸性洋紅液約需10元，而乳酸酚—酸性洋紅液則需180 元左右，兩者差異甚大。但因乳酸酚—酸性洋紅液比1％酸性洋紅液染之色效果更優；當在薄葉類染色時，以乳酸酚—酸性洋紅液加熱處理之時間較快，工作人員接觸之時間較短，欲很快得到清晰之結果，故可選用乳酸酚—酸性洋紅液來染色。若無急需之狀況，則用1％酸性洋紅液亦可。當厚葉類染色時，爲安全之計，若用乳酸酚—酸性洋紅液則用浸泡法爲妥，或用1％酸性洋紅液效果尙優，研究人員得視情況需要而作適當之選擇。此法尙可能適用於其它作物如茄子，花類等潛蠅或薊馬類產卵量之調查上。

表一、兩種卵染色液效果之比較

Table 1. Comparison of the two methods for staining insect eggs.

項目	染色液種類及方法		
	1％酸性洋紅液	乳酸酚—酸性洋紅液	
		水浴加熱法	浸泡法
1.染色效果	卵呈暗紅色	卵呈紫紅色	
2.染色液費用	較便宜N.T.$10元/250ml	較昂貴N.T.$180元/250ml	
3.毒性	無	酚具神經毒及腐蝕性	
4.染色時間	慢 {薄葉類浸1－2天；厚葉類浸2－3天}	快 {薄葉類加熱3－5分鐘；厚葉類加熱10—15分鐘}	慢 {厚葉類浸泡2－3天}
適用範圍	薄、厚葉類之調查或大量調查時用	少量調查及薄葉類調查時用	大量調查及厚葉類調查時用

參考文獻

1. 王清玲，1979，大豆莖潛蠅之發生與生活習性，中華農業研究，28(4)：217—223。
2. 周弘京、朱耀沂，1970，葱潛蠅之研究II，生活史與習性，植保會刊12(4)：171—177。
3. 邱燁宗，1984，腹鈎薊馬之生物學及化學防治，植保會刊26(4)：365—377。
4. 洪文堯，1970，蔬菜害蟲生態研討—潛蠅類，蔬菜害蟲學術討會專刊：59—61。
5. Curtis, W. E. 1942. A method of locating insect eggs in plant tissues. J. Econ. Entomol. 35(2): 286.
6. Everett, T. R., & G. Trahan. 1967. Oviposition by rice water weevils in Louisiana. J. Econ. Entomol. 60(1): 305-307.
7. Gifford, J. R. . & G. B. Trahan. 1969. Staining technique for eggs of rice water weevils oviposited intracellulary in the tissue of the leaf sheaths of rice. J. Econ. Entomol. 62(3): 740-741.
8. Goodey, T. 1937. Two methods for staining nematodes in plant tissues. J. Heminthol 15(3): 137-144.
9. Khan, Z. R. & R. C. Saxena. 1986. Technique for locating planthopper (Homoptera: Delphacidae)

& eafhopper (Homoptera:Cicadellidae) eggs in rice plants. J. Econ. Entomol. 79 : 271-3.

10. Monteith, J. E., Jr., & E. A. Hollowell. 1929. Pathological symptoms in legumes caused by Potato leafhopper. J. Agric. Res. 38 : 649-677.
11. Parrella, M. P. & K. L. Robb. 1982. Technique for staining eggs of *Liriomyza trifolii* within chrysanthemum, celery, & tomato leaves. J. Econ. Entomol. 75 : 383-384.
12. Poos, F. W. & H. W. Johnson. 1936. Injury to alfalfa & red clover by the potato leafhopper. J. Econ. Entomol. 29 : 325-331.
13. Prahl, W. H. 1953. Phenol, pp. 269-297. In J. D. Scott, A Standen, J. A. Lecky, & A. K, Kelvie eds., Encyclopedia of chemical technology, vol. 10. The Interscience Encyclopedia, New York.
14. Rezaul Karim, A. N. M. 1978. Varietal resistance to the green leafhopper, *Nephotettix virescens* (Distant):sources, mechanisms, and genetics of resistance. Ph. D. dissertation, University of the Philippines, Los Baños.
15. Saxéna, R. C. & M. D. Pathak. 1979. Factors governing susceptibility and resistance of certain rice varieties to the brown planthopper, pp. 303-317, In Brown planthopper: threat to rice production in Asia. International Rice Research Institute, Los Baños, Philoppines.

Different Staining Methods for Eggs of Diminutive insects

Feng-Ming Lu

Summary

Eggs of many leaf miners and thrips are laid in the plant tissues. We used two staining solutions in order to detect and count the eggs which are 1% aqueous acid fuchsin and lactopenol acid fuchsin. The preceding solution is cheaper and no poison but need long time to stain it. The other solution is more effective but costed higher and also poisoned to the human nervous system. There fore, we usually heat it in water bath for the rapid dipping of the thin leaf, and in immersion method of long period dipping for the thick leaf, it will decrease the damage of the toxic phenol. In conclusion, we select the proper staining method for the special purose. After treatment, the color of eggs became deep red or purple red that were easier to observe.

---

1. Contribution No. 1367 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Research assistant. Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station, TARI. Fengshan, Kaohsiung, Taiwan 830. ROC.