



Formosan Entomologist

Journal Homepage: entsocjournal.yabee.com.tw

Genetic Variation of *Cacopsylla chinensis* (Hemiptera: Psyllidae) in Taiwan Based on Mitochondrial 16S rDNA Sequence 【Research report】

應用粒線體 16S rDNA 探討台灣地區中國梨木蝨之遺傳變異【研究報告】

Hsien-Chung Lee Man-Miao Yang, Wen-Bin Yeh* Fasheng Li
利軒仲 楊曼妙 葉文斌* 李法聖

*通訊作者E-mail: wbyeh@nchu.edu.tw

Received: 2006/04/26 Accepted: 2006/12/31 Available online: 2007/06/01

Abstract

Variably colored pear psyllids, which caused serious damage to pears, have been found in pear orchards in central Taiwan since 2002 and have continued to disperse to other areas. Identification based on adult morphological characters confirmed that the pest is *Cacopsylla chinensis* (Yang and Li), which is a newly invasive species. The slight morphological variations among species and the seasonal dimorphism within species usually lead to difficulties in identification of many pear psyllids. Herein, we used the sequence of the 16S rDNA region to analyze the genetic variation of *C. chinensis*. Specimens analyzed included *C. chinensis* from 14 Taiwanese and two China populations, *C. qianli* from three populations, and two other *Psylla* species. Phylogenetic results clearly separated *C. qianli* from *C. chinensis* with a divergence of 9.7%. Specimens morphologically recognized as *C. chinensis* were divided into two sister groups with 2.5% sequence divergence. One group included most of the Taiwanese specimens, and the *C. chinensis* from China was well situated among them. The other group included several specimens from Dongshi and Heping of Taichung County, and Jianshi of Hsinchu County, Taiwan. The presence of two well-separated *C. chinensis* lineages suggests that different founder events from neighboring areas might exist in the introduced *C. chinensis*, and the elucidating species status of the two *C. chinensis* lineages requires further clarification.

摘要

中國梨木蝨 (*Cacopsylla chinensis* (Yang and Li)) 是新近入侵台灣的害蟲，首先於 2002 年在台灣中部梨園發現並不斷擴散至其他區域，此種木蝨危害嚴重且體色變異極大，具有淡色型與深色型。危害梨樹的木蝨種類繁多，但不同種間外部形態僅具微小差異，而同種內常具有冬夏二型，不易區分；本文應用粒線體 16S 核糖體去氧核糖核酸 (16S rDNA) 的 DNA 序列進行分析，探討台灣地區中國梨木蝨的分子變異及其分化情形。木蝨標本來源包括取樣自台灣不同地區的 14 個中國梨木蝨族群與 2 個中國大陸族群，另包含台灣 3 個黔梨木蝨族群，與 2 種近緣屬之外群。結果顯示黔梨木蝨 (*C. qianli*) 與中國梨木蝨 (*C. chinensis*)，均分別為單源群，二者之序列平均差異為 9.7%。而台灣地區之中國梨木蝨可再分為兩群，群間差異達 2.5%，其中一群包括多數台灣地區族群，中國大陸的中國梨木蝨個體；但台中東勢、和平及新竹尖石部分個體則另成一群。此一現象可能源自於台灣地區的中國梨木蝨有多次入侵的情形，由鄰近不同地區的木蝨族群侵入台灣而致，而此兩支系是否為不同種仍有待進一步釐清。

Key words: *Cacopsylla chinensis*, 16S rDNA, introduced species, genetic variation

關鍵詞: 中國梨木蝨、16S 核糖體去氧核糖核酸、入侵種、遺傳變異。

Full Text: [PDF \(0.91 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

應用粒線體 16S rDNA 探討台灣地區中國梨木蝨之遺傳變異

利軒仲 國立中興大學昆蟲學系 402 台中市國光路 250 號；高雄醫學大學生物醫學暨環境生物學系 803 高雄市十全一路 100 號
楊曼妙 葉文斌* 國立中興大學昆蟲學系 402 台中市國光路 250 號
李法聖 中國農業大學昆蟲學系 100094 中國北京圓明園西路 2 號

摘 要

中國梨木蝨 (*Cacopsylla chinensis* (Yang and Li))，是新近入侵台灣的害蟲，首先於 2002 年在台灣中部梨園發現並不斷擴散至其他區域，此種木蝨危害嚴重且體色變異極大，具有淡色型與深色型。危害梨樹的木蝨種類繁多，但不同種間外部形態僅具微小差異，而同種內常具有冬夏二型，不易區分；本文應用粒線體 16S 核糖體去氧核糖核酸 (16S rDNA) 的 DNA 序列進行分析，探討台灣地區中國梨木蝨的分子變異及其分化情形。木蝨標本來源包括取樣自台灣不同地區的 14 個中國梨木蝨族群與 2 個中國大陸族群，另包含台灣 3 個黔梨木蝨族群，與 2 種近緣屬之外群。結果顯示黔梨木蝨 (*C. qianli*) 與中國梨木蝨 (*C. chinensis*)，均分別為單族群，二者之序列平均差異為 9.7%。而台灣地區之中國梨木蝨可再分為兩群，群間差異達 2.5%，其中一群包括多數台灣地區族群，中國大陸的中國梨木蝨個體；但台中東勢、和平及新竹尖石部分個體則另成一群。此一現象可能源自於台灣地區的中國梨木蝨有多次入侵的情形，由鄰近不同地區的木蝨族群侵入台灣而致，而此兩支系是否為不同種仍有待進一步釐清。

關鍵詞：中國梨木蝨、16S 核糖體去氧核糖核酸、入侵種、遺傳變異。

前 言

梨木蝨 (pear psyllids) 為一群寄居在梨樹，吸食梨樹汁液的木蝨，屬於木蝨科 (Psyllidae) 的 *Cacopsylla* 屬。梨木蝨的成蟲及若蟲均取食梨樹的芽、嫩葉、葉片及枝條，而且若蟲常會自肛門排放大量蜜露；嚴重危害時，會造成梨葉提早掉落，影響植株行光合作用。

梨樹上危害的木蝨過去均被歸類到 *Psylla* 屬，直至 1970 年代才另訂為 *Cacopsylla*，寄主多為薔薇科 (Rosaceae) 植物 (Ossiannilsson, 1970; Hodkinson, 1988)。歐美危害梨樹之數十種木蝨 (Burckhardt and Hodkinson, 1986)，多數已由 *Psylla* 屬移至 *Cacopsylla* 屬 (Hodkinson, 1988)。中國大陸已知的 22 種梨木蝨中，原本大都歸類

*論文聯繫人
e-mail: wbyeh@nchu.edu.tw

到 *Psylla* 屬，目前也多已移至 *Cacopsylla* 屬 (Yang and Li, 1981; Li and Yang, 1984)。台灣 1990 年以前已發表記錄之木蝨中，並無 *Cacopsylla* 屬木蝨，也無以梨樹為寄主的 *Psylla* 屬木蝨存在 (Yang, 1984; Fang and Yang, 1986; Lauterer *et al.*, 1988; Fang, 1990)。

依據歐美地區的研究，*Cacopsylla* 亞屬 *Hepatopsylla* 之木蝨一年多代，在形態上具有季節二型性，常見危害梨樹者有多種，包括 *C. pyricola* (梨黃木蝨，英文俗稱 pear psylla)、*C. pyri* (梨木蝨) 與 *C. bidens* 等 (Jensen *et al.*, 1964; Wong and Madsen, 1967; Burckhardt, 1994)，夏季與冬季的成蟲外觀差異極大，分別稱之為夏型 (summer form) 及冬型 (winter form)。以目前危害較嚴重與研究較廣泛的 *C. pyri* 與 *C. pyricola* 為例，冬季型個體較夏季型大；就體色而言，冬季型的顏色較為一致，變化較小 (Wong and Madsen, 1967; Burckhardt and Hodkinson, 1986)。中國大陸危害的梨木蝨中，中國梨木蝨 (*Cacopsylla chinensis* (Yang and Li)) 亦有季節二型的報導 (Yang and Li, 1981)。

台灣地區於 1994 年首次報導取食梨樹之黔梨木蝨 (*Cacopsylla qianli* (Yang and Li)) (Chou and Fang, 1994)，疑為衰弱病之媒介昆蟲，但族群密度不高。然而 2002 年台中縣東勢鎮至和平鄉的梨園之梨木蝨大發生，且體色變異極大，由形態上判定為新入侵到台灣的中國梨木蝨 (*C. chinensis*)，大致歸類為深色型 (即冬季型) 及淡色兩型 (即夏季型) (Yang *et al.*, 2004)；其中深色型梨木蝨呈現不同程度的淺褐色、紅褐色乃至深褐色，主要發生期為初秋及隔年春末夏初，冬季會有極少數的個體存在；淡色型成蟲個體的體色為不

同程度之淡黃或淡綠色，主要發生期由春季至秋初 (Yang *et al.*, 2004)。除前緣翅脈處的色斑外，此二型梨木蝨外部形態特徵十分相似，僅能由較細微的差異加以區辨，加上體色變化極大，未有穩定的深色或淡色型。在多種 *Cacopsylla* 屬木蝨有多型性的情形之下，台灣此種危害嚴重的各色型梨木蝨是否已有分化或是多次入侵所造成，均值得進一步的研究。本研究利用聚合酶連鎖反應 (PCR) 增幅粒線體 16S rDNA (16S ribosomal DNA) 基因區段，分析此梨木蝨 DNA 的序列資料，期能透過對 DNA 分子特徵的性狀分析，進行台灣地區梨木蝨的鑑定及族群分化上的探討。以釐清各色型木蝨之異同，並進一步探討梨木蝨核酸差異及親緣關係。

材料與方法

一、標本來源

於不同季節針對台灣各地區梨園不同色型的中國梨木蝨進行標本採樣，另外採集黔梨木蝨及 *Psylla* 屬之 *P. alniformosanaesuga* 與 *P. lanceolata* 等木蝨作為比對外群。標本浸泡於 95% 的酒精中，並保存於 -20°C 冷凍櫃備用。依據外部形態鑑定為中國梨木蝨之深色型與淡色型樣本共 25 筆 34 隻木蝨樣本，分別來自 14 個不同梨園的族群，包括東勢地區三個梨園之淡色型 2 隻及深色型 3 隻；和平地區四個梨園淡色型 4 隻及深色型 3 隻；梅峰地區兩處梨園之深色型 2 隻；梨山地區兩處梨園淡色型及深色型各 1 隻；卓蘭地區淡色型 6 隻；新竹尖石地區兩處梨園淡色型 3 隻；並加入中國大陸北京及新疆的淡色型中國梨木蝨樣本 3 隻進行分析。外群比對部分則包括取食梨樹同屬之黔梨木蝨三處梨園的 4 隻個體，以及分別採自台灣赤楊

表一 梨木蝨標本採集資訊及代號

Table 1. Collecting information and annotation of specimen

Abbrev.	Form	Locality*	Date	Species**
JA-1	Summer	Jianshi, Hsinchu Co.	2004/06/23	Cc
JA-3	Summer	Jianshi, Hsinchu Co.	2004/06/23	Cc
JB	Summer	Jianshi, Hsinchu Co.	2004/06/23	Cc
CL-A1	Summer	Zhuolan, Miaoli Co.	2004/05/20	Cc
CL-A2	Summer	Zhuolan, Miaoli Co.	2004/05/20	Cc
CL-B1	Summer	Zhuolan, Miaoli Co.	2004/05/20	Cc
CL-B2	Summer	Zhuolan, Miaoli Co.	2004/05/20	Cc
CL-C1	Summer	Zhuolan, Miaoli Co.	2004/05/20	Cc
CL-C2	Summer	Zhuolan, Miaoli Co.	2004/05/20	Cc
LB	Summer	Lishan, Taichung Co.	2003/07/03	Cc
LC-F	Winter	Lishan, Taichung Co.	2004/05/05	Cc
TA	Summer	Dongshi, Taichung Co.	2003/07/16	Cc
TA-M	Winter	Dongshi, Taichung Co.	2002/11/19	Cc
TA-F	Winter	Dongshi, Taichung Co.	2002/11/19	Cc
TC-M	Winter	Dongshi, Taichung Co.	2002/11/19	Cc
TD-A	Summer	Dongshi, Taichung Co.	2003/07/16	Cc
HD	Summer	Heping, Taichung Co.	2003/07/16	Cc
HE-1	Summer	Heping, Taichung Co.	2004/10/15	Cc
HE-2	Winter	Heping, Taichung Co.	2004/10/15	Cc
HG-1	Winter	Heping, Taichung Co.	2003/09/29	Cc
HG-3	Winter	Heping, Taichung Co.	2003/09/29	Cc
KA-M	Summer	Heping, Taichung Co.	2002/11/24	Cc
KA-F	Summer	Heping, Taichung Co.	2002/11/24	Cc
MA-CD	Winter	Meifong, Nantou Co.	2004/03/19	Cc
MB-CL	Winter	Meifong, Nantou Co.	2004/03/19	Cc
BA-A	Summer	Beijing*	2003/06/17	Cc
BA-N	Summer	Beijing*	2003/06/17	Cc
CuA	Summer	Sinzian*	2003/07/01	Cc
MA	Winter	Meifong, Nantou Co.	2003/10/06	Cq
MA-Q	Winter	Meifong, Nantou Co.	2004/03/19	Cq
MB-Q	Winter	Meifong, Nantou Co.	2004/03/19	Cq
MC-Q	Winter	Meifong, Nantou Co.	2004/03/19	Cq
DA-1	--	Dauiling Hualien Co.	2003/07/04	Pl
DA-2	--	Dauiling Hualien Co.	2003/07/04	Pa

* Materials from China.

** Cc, *Cacopsylla chinensis*; Cq, *Cacopsylla qianli*; Pl, *Psylla lanceolata*; Pa, *Psylla alniformosanaesuga*.

(*Alnus formosana*) 及胡頹子 (*Elaeagnus* sp.) 之 *Psylla* 屬兩種木蝨 *P. alniformosanaesuga* 及 *P. lanceolata* 各 1 隻。詳細地區、採集資料及採集時間列於表一。

二、梨木蝨 DNA 的萃取

將梨木蝨自酒精中取出，待酒精揮發後，放入 1.5 ml 微量離心管中，再應用 Promega 公司生產的萃取試劑 Wizard Genomic DNA Purification Kit 萃取 DNA，詳細流

程參考 Hsu *et al.* (2005)。

三、16S rDNA 區段的複製

運用聚合酶連鎖反應複製粒線體 16S 核醣體 DNA (16S rDNA) 基因。PCR 反應的引子為 16SR21 (5'-GCCTGTTTATCAAAA ACAT-3') 及 16S22 (5'-CCGGTCTGGACT CAGATA-3') (Yeh *et al.*, 1997)。複製條件依序為：95°C 預熱 2 分鐘；95°C 40 秒、52°C 50 秒及 72°C 50 秒，共 30 個循環；72°C 10 分鐘。

四、電泳分析

將 PCR 增幅產物以 1% 的瓊脂膠進行電泳分析，確定複製產物的大小及產量是否正確及足夠，隨後再將正確 PCR 產物進行純化。

五、16S rDNA 產物的純化

以反應試劑組 QIA Quick PCR Purification Kit 直接回收產物，其步驟參考試劑內的說明，並略作修改 (Hsu *et al.*, 2005)。當產物有多條帶時，以反應試劑組 QIA Quick Gel Extraction Kit 回收，其步驟參考試劑內的說明。

六、16S rDNA 之定序

DNA 純化後，取 0.2 ml PCR 專用微量離心管，放入經過純化之 PCR 產物約 100 ng，分別和 3.2 pmole 的引子充分混合，定序所採用的引子與上述相同，分別為 16SR21 及 16S22。應用自動定序儀 (ABI337)，雙向定序而獲得 DNA 序列。

七、序列的分析

各引子定序完成的 DNA 片段約 500 bp，利用國家衛生研究院 (National Health

Research Institutes) 的 GCG 網站 (<http://gcg.nhri.org.tw/>) 將上下游定序出來的 DNA 序列進行整理校正及排序。利用 MEGA3 (Kumar *et al.*, 2004) 軟體，計算各個 DNA 序列區段在樣品間的變異比例，分別計算序列核苷轉換 (transition, Ts) 與顛換 (transversion, Tv) 之變異比例；當序列彼此比對遇有定序不明確的鹼基位時，該位置不列入差異比例的運算。應用鄰接法 (Neighbor-joining method) 推論親緣關係並進行親緣樹 bootstrap 值之測試。

結 果

一、16S rDNA 序列變異分析

16S rDNA 定序所獲得的片段長度 (不含引子) 約為 474 bp (圖一)，其核苷酸組成 A、T、C 及 G 所佔的平均百分比分別為 35.1、38.4、9.8 及 16.7%。核苷酸變異分析顯示樣本間的變異可分為幾大類群：最大的一群中國梨木蝨共 24 隻，涵蓋中國大陸標本及多數台灣梨園標本，樣本彼此變異範圍 0~1.3%，平均變異為 0.3%，較特別的是群內變異中有一隻個體 (CL-C2) 的變異可達 2.3%；另一群來自和平鄉 (標示為 HD)、東勢鎮 (TD) 及尖石鄉 (JA) 的 4 個中國梨木蝨樣本自成一類，有較小的變異，樣本彼此變異範圍 0~0.4%，平均變異為 0.16%，與前一類的中國梨木蝨平均差異達 2.5%。此外，梅峰地區黔梨木蝨 (*C. qianli*) 的 4 隻樣本變異另形成一單源群，樣本彼此變異範圍 0~0.7%，平均變異為 0.3%，這些黔梨木蝨與上述二群中國梨木蝨的平均差異分別為 9.6 與 9.9%。而寄主分別為台灣赤楊及胡頹子的兩種 *Psylla* 屬木蝨與上述三群的差異分別為 10.4、10.3 及 10.7%。

BA-A	TTCTGGGGGA	TATATGTTTT	TGGTGTAAAC	TGCTCAATGC	TTTAGTAAAT	AGCTGCAGTA	TTTTGACTGT	ACAAAGGTAG	CATAATCATT	AGTCTTTTGA
BA-N
CuA
JB
CL-A1
CL-A2
CL-B1
CL-B2
CL-C1
CL-C2C.....
LB
LC-F
TA
TA-M
TA-F
TC-M
HE-1
HE-2	.G.....G.....
HG-1
HG-3G.....C.....	C.....
KA-M
KA-FC.....
MA-CD
MB-CL
TD	A...A...A.....
HD	A...A...A.....
JA-1	A...A...A.....	N.....
JA-3	A...A...A.....
MA	.G A.A.....	.T.....	.A.....
MA-Q	.G A.A.....	.T.....	.A.....
MB-Q	.G A.A.....	.T.....	.A.....
MC-Q	.G A.A.....	.T.....	.A.....
DA-1	.G A.A.....	.T.....
DA-2	A...A...A.....A.....
BA-A	TTGAAGGCTT	GCATGAATGG	TTGAACAGGA	TATTAACITTT	TTTAGTTATA	TGATATTTTA	ATTTATAGTT	TATGTTAAAA	TGCATAATTA	TTTAAAAGGG
BA-N
CuA
JB
CL-A1
CL-A2
CL-B1
CL-B2
CL-C1	.A.....
CL-C2	C.....A.....	CCC.....
LB
LC-F
TA
TA-M
TA-F
TC-M
HE-1
HE-2
HG-1
HG-3	C.....
KA-M
KA-F
MA-CD
MB-CL
TD	.T.....C.....
HD	.T.....C.....
JA-1	.T.....C.....
JA-3	.T.....C.....
MA	.G.....	.T.....	.A.....	.C.....	.AT.....	.A.....
MA-Q	.G.....	.T.....	.A.....	.C.....	.AT.....	.A.....
MB-Q	.G.....	.T.....	.A.....	.C.....	.AT.....	.A.....
MC-Q	.G.....	.T.....	.A.....	.C.....	.AT.....	.A.....C.....
DA-1	.T.....	.A.....A.....	.C.....	.C.....	.A.....	.C.....	.G.....	.A.....
DA-2	.A.....	.A.....	.T.....	.T.....	.A.....	.C.....	.A.....	.C.....	.A.....	.TA.....

BA-A	ACGATAAGAC	CCTATAGAAT	TTAAAAATAC	TTATGACAA-	-AACTATTTT	TTTGTGGGG	TGACAGTAAA	TAAACTTTTA	TGAAATTTTC	ATTGTTGAAT
BA-N
CuA
JB
CL-A1
CL-A2
CL-B1
CL-B2
CL-C1
CL-C2C.....C.....
LB
LC-F
TA
TA-M
TA-F
TC-M
HE-1
HE-2
HG-1
HG-3
KA-M
KA-F
MA-CD
MB-CL
TDT G.....C.....C.....
HDT G.....C.....C.....
JA-1T G.....C.....C.....
JA-3T G.....C.....C.....
MAG.....A.....T.....A.....T.....T.....TT.....C.....TTC.....A.....A.....A.....
MA-QG.....A.....T.....A.....T.....T.....TT.....C.....TTC.....A.....A.....A.....
MB-QG.....A.....T.....A.....T.....T.....TT.....C.....TTC.....A.....A.....A.....
MC-Q	C.....G.....A.....T.....A.....T.....T.....TT.....C.....TTC.....A.....A.....A.....
DA-1C.....G.....A.....C.....G.....A.....TTTT.....G.....C.....TG.....A.....G.....
DA-2A.....AATATGGG.....T.....ATT.....C.....T.....A.....G.....G.....A.....AA.....A.....

BA-A	GGATTAATGA	TCCTAATATT	TAGATAAAAA	GATAA--AAT	TACCTTAGGG	ATAACAGCAT	AATTTTTTTT	AAAAGATCTT	ATTAATAAAA	AAGATTATGA
BA-N
CuA
JBT.....
CL-A1
CL-A2
CL-B1
CL-B2
CL-C1T.....
CL-C2
LB
LC-F
TA
TA-M
TA-F
TC-M
HE-1
HE-2
HG-1
HG-3
KA-M
KA-F
MA-CD
MB-CL
TDA.....CG.....G.....
HDA.....G.....
JA-1A.....G.....
JA-3A.....G.....
MAT.....GGT.....TT.....G.....G.....G.....A.....G.....TAA.....G.....
MA-QT.....GGT.....TT.....G.....G.....G.....A.....G.....TAA.....G.....G.....
MB-QT.....GGT.....TT.....G.....G.....G.....A.....G.....TAA.....G.....G.....
MC-QT.....GGT.....TT.....G.....G.....G.....A.....G.....TAA.....G.....G.....
DA-1AT.....G.....G.....T.....TA.....TT.....G.....G.....G.....A.....G.....TAA.....A.....G.....
DA-2AT.....A.....T.....A.....-T.....G.....T.....T.....A.....G.....TAA.....A.....

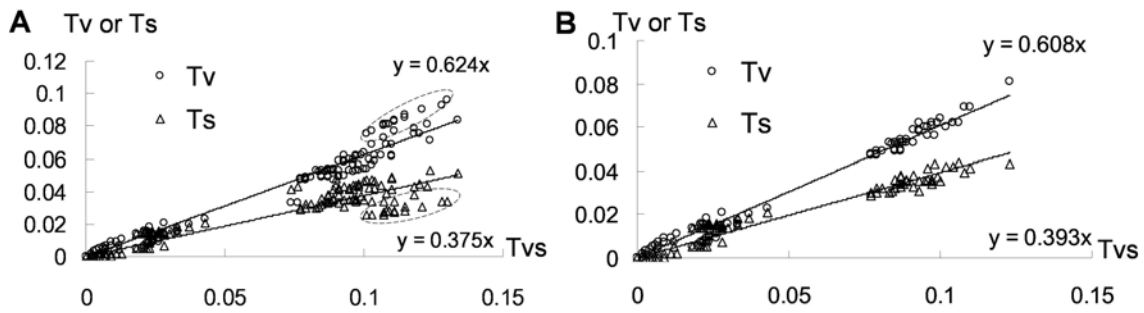
BA-A	CCTCGATGTT	GAATTAAAAT	AAAATTTTGG	TGTAGAAGCT	TAATTTTTTA	GTCTGTTCGA	CTTTAAATTT	TACA
BA-N
CuA
JB
CL-A1
CL-A2
CL-B1
CL-B2
CL-C1
CL-C2
LB
LC-F
TA
TA-M
TA-F
TC-M
HE-1
HE-2
HG-1
HG-3
KA-M
KA-F
MA-CD
MB-CL
TD
HD
JA-1N.....
JA-3C.....C.....N.....N.....
MAA.....
MA-QA.....
MB-QA.....
MC-QA.....
DA-1
DA-2C..A.....G.....T.....

圖一 木蝨之 16S rDNA 序列，代號縮寫同表一；"."表示與第一行的序列相同；"N" 為定序不明確的鹼基位；"-" 於 5 撇端或 3 撇端連續出現表示未得之序列，若於序列之間則表示間隔。

Fig. 1. Sequences of the partial 16S rDNA of various psyllids. The abbreviations are the same as to those in Table 1. Dots (.) indicate that the sequence is identical to that in the first line, while an "N" indicates an ambiguous position. A dash (-) between sequences indicates a gap, while several dashes (-) in both flanking regions indicate that the sequences were unavailable.

散佈圖顯示樣本間核苷酸替換速率尚未飽和 (圖二 A)；樣本間的 DNA 差異總變異 (Tv) 與其相對的顛換取代率 (Tv) 及轉換取代率 (Ts) 之散佈圖顯示，在樣本間的總變異小於 0.05 時，顛換取代及轉換取代之間的變異速率相近，但總變異值大於 0.07 時顛換取代改變速率則較轉換取代要快；趨勢線顯示顛換取代速率約為轉換取代速率的 2 倍；另一特別的地方是總變異大於 0.1 時，有一部份的轉換取代數值變低，進一步分析後發現，此

是由台灣赤楊木蝨 (*P. alniformosanaesuga*, DA-2) 造成 (虛線內之點)。將 *Psylla* 屬的物種去除後，僅分析 *Cacopsylla* 物種的變異，樣本間的 DNA 差異總變異與其相對的顛換取代及轉換取代之散佈圖顯示出類似的結果，但未有轉換取代數值變低或顛換取代數值變高的現象出現 (圖二 B)。此外，圖二 A 及 B 均顯示散佈圖都分成小於 0.05 及大於 0.07 的兩類，小於 0.05 為近緣種之間的變異，大於 0.07 則為屬內親緣關係較遠或不同



圖二 木蝨樣品間之 16S rDNA 差異散佈圖 (A) 及 *Cacopsylla* 屬內樣本間的序列變異散佈圖 (B)。橫軸為總變異比例，縱軸為相對之轉換取代比例 (Ts, 三角形) 及顛換取代比例 (Tv, 圓形) 之變異。虛線內為 *Psylla alniformosanaesuga* 的數值。

Fig. 2. Scattered plots of the total substituted proportion versus corresponding transitions (Ts, triangles) or transversions (Tv, circles) of the 16S rDNA sequence for all pairwise comparisons (A) and for *Cacopsylla* species (B). Dotted line circled the data of *Psylla alniformosanaesuga*.

屬物種之間的變異。

二、親緣關係之研究

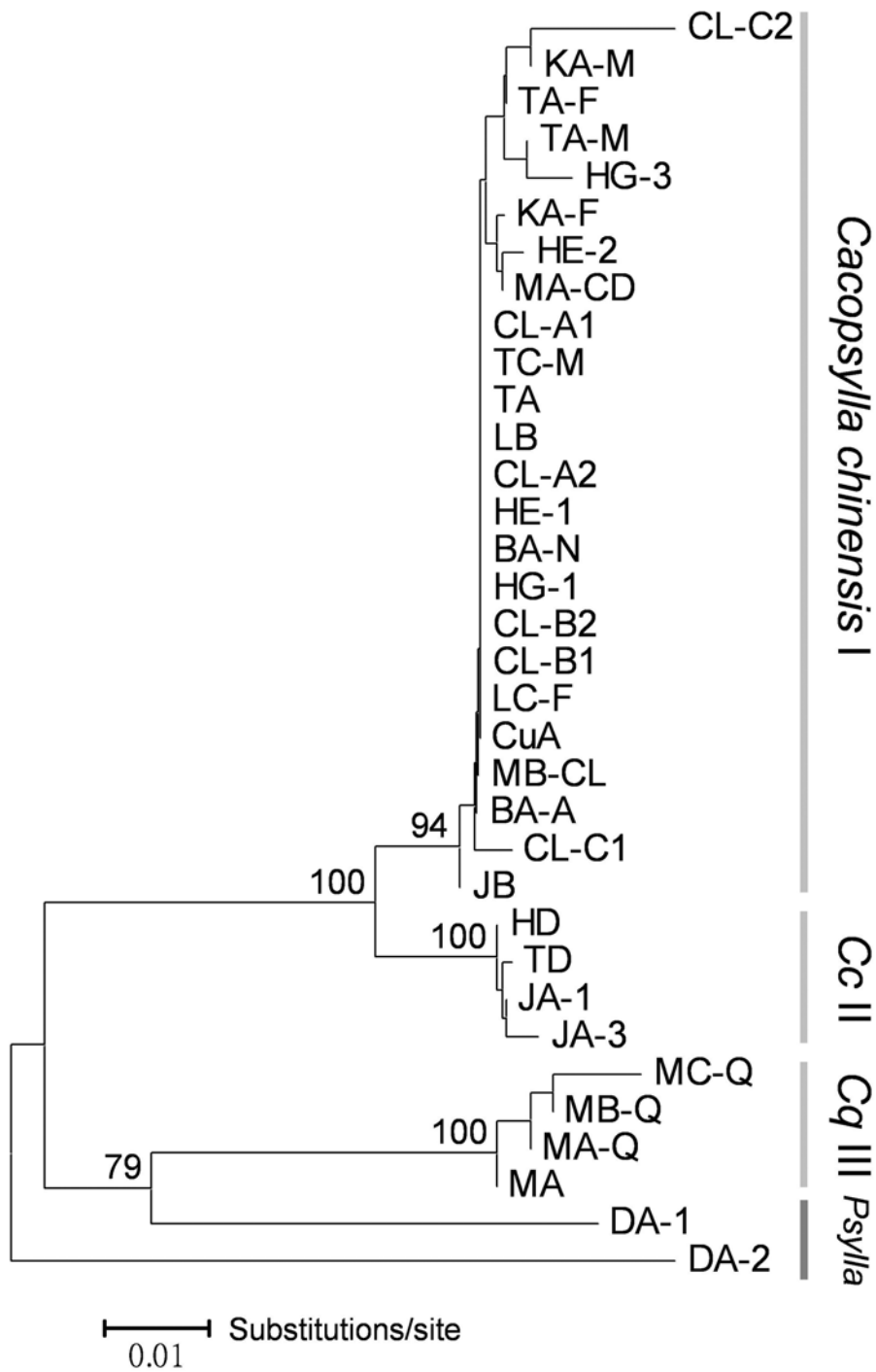
應用 Neighbor-joining 所建構之親緣關係 (圖三) 顯示，台灣梨園之中國梨木蝨區分為 2 個支系，其一為台灣各地梨園與北京及新疆的中國梨木蝨 (*C. chinensis*)，另一支包括新竹尖石鄉與台中東勢及和平等梨園的中國梨木蝨，此一支系標本由形態特徵判定為中國梨木蝨，值得進一步分析其分類地位。其它物種，如 *Cacopsylla* 屬的黔梨木蝨 (*C. qianli*) 及不同屬的 *Psylla alniformosanaesuga* 及 *P. lanceolata* 等則與中國梨木蝨相距甚遠。

討論

目前形態上鑑定梨木蝨，有些憑藉特徵為微小差異，如不同角度面相觀的生殖器特徵、翅脈、翅斑及頰突等特徵做為分類的依據 (Burckhardt and Hodkinson, 1986; Burckhardt, 1994; Yang *et al.*, 2004)。本研究分析的梨木蝨樣本具有多色型，深色型有不同程度的紅褐色至深褐色，淡色型則為淡

黃、淡綠及中間色，比起歐洲及美國已發表二型性的物種，如 *Cacopsylla pyri*、*C. pyricola* 與 *C. biden* 等 (Jensen *et al.*, 1964; Wong and Madsen, 1967; Burckhardt, 1994)，有更為複雜的體色變化。

本研究經由分析粒線體 16S rDNA 基因區段親緣關係，更進一步證實台灣梨園各色型梨木蝨為中國梨木蝨。此外，體色及外型與深色型中國梨木蝨相近的黔梨木蝨，其與中國梨木蝨間的親緣關係相差甚遠。鄰接法所建構之親緣關係，排除 *Psylla* 屬木蝨後，可分為三個支系；第一為大陸地區為主的中國梨木蝨群具 24 個樣本，其中深色型與淡色型都有；第二支系為來自和平鄉 (HD)、東勢鎮 (TD) 及尖石鄉 (JA) 等地的 4 個樣本，值得注意的是其所有樣本均為淡色型，是否與採集時間均為夏季有關，需要進一步的分析；第三群是梅峰地區的黔梨木蝨 (*C. qianli*) 4 個樣本，所有樣本與先前研究紀錄相同均為深色型；但 *C. qianli* 未與中國梨木蝨群聚，反而與 *Psylla* 的成員落在同一群，顯示 *Cacopsylla* 的單源群認定須進一步確認；此一推論也可從圖二的散佈圖獲得一些訊息，部份 *C. qianli* 與 *C.*



圖三 16S rDNA 區段親緣關係圖；圖上以 proportion-distance 運算模式，經 neighbor-joining 群聚方法所推導之親緣圖；演化支 I、II 及 III 為 *Cacopsylla* 之物種之數值為拔靴值，代號縮寫參考表一。

Fig. 3. Phylogenetic tree inferred from the 16S rDNA region. The Neighbor-Joining clustering analysis was used, based on the proportional distance model. Clades I, II, and III belong to *Cacopsylla* species. Bootstrap values are shown beneath the branches. Abbreviations are the same as those in Table 1.

chinensis 間的變異大於 0.1，此數值與 *Cacopsylla* 及 *Psylla* 不同屬間的部份變異數值相近。另外，上述第二群支系，與大陸地區為主的中國梨木蝨群間的差異為 2.5%，已具很大的分化 (Yeh *et al.*, 1997, 2004)；根據近緣種或不同族群間的變異顯示，此一支系有可能與大陸地區中國梨木蝨互為不同種或有特殊的演化過程；可能此二支系於不同地區分化開來，在種化尚未完全前有雜交發生，致使同種或同族群內的中國梨木蝨有不同型的粒線體 DNA 存在。此外，中國梨木蝨的變異當中，有一個體 (CL-C2) 在群內的差異達 2.3%，經序列檢查後發現，可能是 PCR 複製過程所造成，因其有 8 個獨特的變異位置 (圖一)。

若以 16S rDNA 演化速率每百萬年 1.7~2.6% 來看 (Brower, 1994; Fleischer *et al.*, 1998; Yeh *et al.*, 2004)，第一與第二支系的 DNA 差異大約是 100 至 150 萬年前即已分化。此兩群中國梨木蝨在 1990 年代以前尚未出現在台灣 (Yang, 1984)，要在未有特別隔離障礙的台灣地區自然分化實不大可能；因此最有可能的原因應為，中國梨木蝨在鄰近地區分化成不同的支系，經由不同地區的族群分別入侵到台灣再雜交所造成。

誌 謝

感謝農委會提供研究經費之支持 (計畫編號 92 農科-1.8.1-檢-B3；93 農科-1.8.1-檢-B3；94 農科-1.8.1-檢-B3)；另感謝樓梅芳小姐協助標本的收集。

引用文獻

Brower, A. V. Z. 1994. Rapid morphological

radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 6491-6495.

Burckhardt, D. 1994. Psyllid pests of temperate and subtropical crop and ornamental plant (Hemiptera: Psylloidea): a review. *Entomol. Trends Agric. Sci.* 2: 173-186.

Burckhardt, D., and I. D. Hodkinson. 1986. A revision of the west Palearctic pear psyllids (Hemiptera: Psylloidea). *Bull. Entomol. Res.* 76: 119-132.

Chou, L. Y., and S. J. Fang. 1994. New record of *Psylla qianli* (Homoptera: Psyllidae) from Taiwan. *J. Agric. Res. China* 43: 467-468.

Fang, S. J., and C. T. Yang. 1986. Psylloidea of Taiwan (Homoptera: Sternorrhyncha) Supplement. *Taiwan Mus. Spec. Publ.* 6: 119-176.

Fang, S. J. 1990. Psylloidea of Taiwan supplement II (Homoptera). *J. Taiwan Mus.* 43: 103-117.

Fleischer, R. C., C. E. McIntosh, and C. L. Tarr. 1998. Evolution on a volcanic conveyor belt: using phylogeographic reconstructions and K-Ar-based ages of the Hawaiian islands to estimate molecular evolutionary rates. *Mol. Ecol.* 7: 533-545.

Hodkinson, I. D. 1988. The Nearctic Psylloidea (Insecta: Homoptera): an annotated check list. *J. Nat. His.* 22: 1179-1243.

- Hsu, K., T. Hua, N. T. Chang, and W. B. Yeh.** 2005. Molecular identification of important spider mites using multiplex PCR and PCR-RFLP. *Formosan Entomol.* 25: 243-254.
- Jensen, D. D., W. H. Griggs, C. Q. Gonzales, and H. Schneider.** 1964. Pear decline virus transmission by pear psylla. *Phytopathology* 54: 1346-1351.
- Kumar, S., K. Tamura, and M. Nei.** 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Brief Bioinfo.* 5: 150-163.
- Lauterer, P, C. T. Yang, and S. J. Fang.** 1988. Changes in the nomenclature of five species of psyllids from Taiwan (Homoptera: Psylloidea), with notes on the genus *Bactericera*. *J. Taiwan Mus.* 41: 71-74.
- Li, F., and C. Yang.** 1984. The pear psylla of Yunnan and Guizhou with descriptions of eleven new species (Homoptera: Psyllidae). *Entomotaxonomia* 6: 219-234.
- Ossiannilsson, F.** 1970. Contributions to the knowledge of Swedish psyllids (Hemiptera: Psylloidea). *Entomol. Scand.* 1: 135-144.
- Wong, T. T. Y., and H. F. Madsen.** 1967. Laboratory and field on the seasonal forms of pear psylla in northern California. *J. Econ. Entomol.* 60: 163-168.
- Yang, C., and F. Li.** 1981. The pear psylla (Homoptera: Psyllidae) of China with descriptions of seven new species. *Entomotaxonomia* 3: 35-47.
- Yang, C. T.** 1984. Psyllidae of Taiwan. Taiwan Museum Special Series pp. 1-305.
- Yang, M. M., J. H. Huang, and F. Li.** 2004. A new record of *Cacopsylla* species (Hemiptera: Psyllidae) from pear orchards in Taiwan. *Formosan Entomol.* 24: 213-220.
- Yeh, W. B., Y. L. Chang, C. H. Lin, F. S. Wu, and, J. T. Yang.** 2004. Genetic differentiation of *Loxoblemmus appendicularis* complex (Orthoptera: Gryllidae): speciation through vicariant and glaciation events. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97: 613-623.
- Yeh, W. B., C. T. Yang, and S. C. Kang.** 1997. Identification of two sibling species, *Ephemerella formosana* and *E. sauteri* (Ephemeroptera: Ephemeridae), based on mitochondrial DNA sequence analysis. *Chinese J. Entomol.* 17: 257-268.

收件日期：2006年4月26日

接受日期：2006年12月31日

Genetic Variation of *Cacopsylla chinensis* (Hemiptera: Psyllidae) in Taiwan Based on Mitochondrial 16S rDNA Sequence

Hsien-Chung Lee Department of Entomology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan; Department of Biomedical and Environmental Biology, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung 803, Taiwan

Man-Miao Yang, Wen-Bin Yeh* Department of Entomology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan

Fasheng Li Department of Entomology, China Agricultural University, No. 2 Yuanmingyuan West Road, Haidian, Beijing 100094, China

ABSTRACT

Variably colored pear psyllids, which caused serious damage to pears, have been found in pear orchards in central Taiwan since 2002 and have continued to disperse to other areas. Identification based on adult morphological characters confirmed that the pest is *Cacopsylla chinensis* (Yang and Li), which is a newly invasive species. The slight morphological variations among species and the seasonal dimorphism within species usually lead to difficulties in identification of many pear psyllids. Herein, we used the sequence of the 16S rDNA region to analyze the genetic variation of *C. chinensis*. Specimens analyzed included *C. chinensis* from 14 Taiwanese and two China populations, *C. qianli* from three populations, and two other *Psylla* species. Phylogenetic results clearly separated *C. qianli* from *C. chinensis* with a divergence of 9.7%. Specimens morphologically recognized as *C. chinensis* were divided into two sister groups with 2.5% sequence divergence. One group included most of the Taiwanese specimens, and the *C. chinensis* from China was well situated among them. The other group included several specimens from Dongshi and Heping of Taichung County, and Jianshi of Hsinchu County, Taiwan. The presence of two well-separated *C. chinensis* lineages suggests that different founder events from neighboring areas might exist in the introduced *C. chinensis*, and the elucidating species status of the two *C. chinensis* lineages requires further clarification.

Key words: *Cacopsylla chinensis*, 16S rDNA, introduced species, genetic variation