



# Formosan Entomologist

Journal Homepage: [entsocjournal.yabee.com.tw](http://entsocjournal.yabee.com.tw)

## Identification of a New Invasive Q Biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Taiwan by Molecular Markers 【Research report】

### 臺灣地區新入侵煙草粉蟲 Q 型生物小種之分子鑑定【研究報告】

Chia-Hung Hsieh, Fu-Sheng Wu, Yi-Hsien Chiang, Hua-Te Fang, and Chiun-Cheng Ko\*  
謝佳宏、吳復生、蔣宜弦、方華德、柯俊成\*

\*通訊作者E-mail: [kocc2501@ntu.edu.tw](mailto:kocc2501@ntu.edu.tw)

Received: 2008/09/03 Accepted: 2008/11/09 Available online: 2008/12/01

### Abstract

*Bemisia tabaci* (Gennadius), among the top 100 world's worst invasive alien species, causes serious agricultural damage. It is divided into many biotypes. Biotype Q, which originated in the Mediterranean region, is a new invader in Taiwan which has been transmitted by poinsettia and has caused great economic losses in the USA, Mexico, China, and Japan. In this study, 481 samples were collected in Taiwan. Molecular markers identified not only the indigenous An and Nauru biotypes and the invasive B biotype but also the new invasive biotype Q were found. Sequence characterized amplified region (SCAR) analysis, cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) markers, and a phylogenetic tree based on the mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) support the new invasive biotype Q being present in Taiwan. However, biotype Q is not being monitored in the field, and we hypothesize that it is in the early stages of invasion. Biotypes B and Q of *B. tabaci* have different inherent levels of resistance to insecticides, thus their coexistence will not be easy to control. Therefore, a quarantine of agricultural crops will be necessary to prevent future multiple invasions of biotype Q in Taiwan and avoid potentially serious agricultural economic losses.

### 摘要

煙草粉蟲 (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) 為世界百大入侵生物種之一，此種可區分為許多生物小種並具農業經濟危害性。原產於地中海區域的 Q 型生物小種，近年已入侵美國、墨西哥、中國、日本等地，藉由聖誕紅作物貿易而快速擴散，造成農業經濟上更大的危害。全面採集臺灣地區煙草粉蟲共 481 筆樣本，除了本地的 An 與 Nauru 型生物小種及入侵 B 型生物小種外，利用分子標示亦在聖誕紅溫室內偵測到 Q 型生物小種。利用 Q 型生物小種序列特徵化增幅區域 (Sequence characterized amplified region, SCAR) 與限制酵素切割擴增片段多型性 (Cleaved amplified polymorphic sequence, CAPS) 鑑定出臺灣有 Q 型生物小種，粒線體細胞色素氧化酶第 1 次單元序列 (Cytochrome oxidase subunit I, COI) 所重建之系統發生樹亦支持此項結果。目前此害蟲尚未在野外發現，推測處於入侵初期的狀態，加上 B 和 Q 型生物小種抗藥性種類不同，共域存在時不易防治，因此須加強農作物進口檢疫上的偵測，防範多次入侵造成臺灣地區農業上的損失。

**Key words:** pest, whitefly, poinsettia, biological invasion, molecular marker

**關鍵詞:** 害蟲、粉蟲、聖誕紅、生物入侵、分子標幟。

Full Text: [PDF\(1.06 MB\)](#)

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

# 臺灣地區新入侵煙草粉蝨 Q 型生物小種之分子鑑定

謝佳宏、吳復生、蔣宜弦、方華德、柯俊成\*

國立臺灣大學昆蟲學系 臺北市大安區羅斯福路四段一號

## 摘要

煙草粉蝨 (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) 為世界百大入侵生物種之一，此種可區分為許多生物小種並具農業經濟危害性。原產於地中海區域的 Q 型生物小種，近年已入侵美國、墨西哥、中國、日本等地，藉由聖誕紅作物貿易而快速擴散，造成農業經濟上更大的危害。全面採集臺灣地區煙草粉蝨共 481 筆樣本，除了本地的 An 與 Nauru 型生物小種及入侵 B 型生物小種外，利用分子標示亦在聖誕紅溫室內偵測到 Q 型生物小種。利用 Q 型生物小種序列特徵化增幅區域 (Sequence characterized amplified region, SCAR) 與限制酵素切割擴增片段多型性 (Cleaved amplified polymorphic sequence, CAPS) 鑑定出臺灣有 Q 型生物小種，粒線體細胞色素氧化酶第 1 次單元序列 (Cytochrome oxidase subunit I, COI) 所重建之系統發生樹亦支持此項結果。目前此害蟲尚未在野外發現，推測處於入侵初期的狀態，加上 B 和 Q 型生物小種抗藥性種類不同，共域存在時不易防治，因此須加強農作物進口檢疫上的偵測，防範多次入侵造成臺灣地區農業上的損失。

**關鍵詞：**害蟲、粉蝨、聖誕紅、生物入侵、分子標幟。

## 前言

煙草粉蝨 (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) 為半翅目 (Hemiptera)，胸喙亞目 (Sternorrhyncha)，粉蝨科 (Aleyrodidae)，粉蝨亞科 (Aleyrodinae)，伯粉蝨屬 (*Bemisia*) 的昆蟲；為國際自然保育聯盟 (International Union for the Conservation of Nature and

Natural Resources, IUCN) 所列出之世界百大入侵生物種之一，更是重要農業害蟲，危害方式包括煤煙病及傳播植物病毒，經常造成農業經濟上相當大的損失。煙草粉蝨種群的分類地位目前仍有爭議，根據文獻至少可區分為 26 型生物小種 (biotype) (修改自 Perring, 2001)、6 型種族 (race) (De Barro *et al.*, 2005) 或 12 型遺傳群 (genetic group)

\*論文聯繫人  
e-mail: kocc2501@ntu.edu.tw

(Boykin *et al.*, 2007), 但是農學方面的研究仍以使用生物小種這個說法為主。目前造成農業方面重大損失的包括 B 和 Q 型生物小種; B 型生物小種也就是最為人熟知的銀葉粉蝨 (*B. argentifolii*), 經由人為貿易擴散到全世界, 因攝食之寄主植物範圍廣泛及能傳播許多植物病毒最受到重視, 在熱帶、亞熱帶、乾燥及地中海型氣候地區皆造成作物之重大為害 (Brown *et al.*, 1995; Frohlich *et al.*, 1999; De Barro *et al.*, 2000; Perring, 2001); Q 型生物小種原先分佈於環地中海地區, 對於多種殺蟲劑有高抗藥性, 防治上相當困難, 近年來 Q 型生物小種已入侵美國、墨西哥、中國和日本等地, 亦造成農業經濟損失 (Zhang *et al.*, 2005; Ueda and Brown, 2006; Martinez-Carrillo and Brown, 2007)。

分子標幟應用在鑑定煙草粉蝨生物小種的方法, 包括酯酶電泳 (esterase)、逢機擴增多態型聚合酶連鎖反應 (RAPD-PCR) 及限制酵素切割擴增片段多型性 (cleaved amplified polymorphic sequence, CAPS) 等, 亦有利用增殖片段長度多態型 (amplified fragment length polymorphism, AFLP)、粒線體細胞色素氧化酶第 1 次單元序列 (cytochrome oxidase subunit I, COI)、粒線體 16S rDNA 及核糖體核酸內轉錄間隔 (internal transcribed spacer 1, ITS1) 所重建之系統發生樹來鑑定生物小種 (Byrne and Devonshire, 1991; De Barro and Driver, 1997; Frohlich *et al.*, 1999; Cervera *et al.*, 2000; De Barro *et al.*, 2000; Horowitz *et al.*, 2005)。害蟲鑑定講求快速鑑定, 因此序列特徵化增幅區域 (Sequence characterized amplified region, SCAR) 及即時定量聚合酶連鎖反應 (Real-time PCR) 也被應用在快速鑑定生物小種 (Horowitz *et al.*, 2005; Ko *et*

*al.*, 2007; Jones *et al.*, 2008)。此外, 微衛星 (microsatellite) DNA 亦被用來研究煙草粉蝨生物小種, 利用族群遺傳概念進行分析, 探討 B 和 Q 型生物小種的遺傳變異與入侵事件 (Delatte *et al.*, 2005; Simón *et al.*, 2007; Tsagkarakou *et al.*, 2007)。

臺灣地區煙草粉蝨生物小種的鑑定, 最早是利用核 DNA 之核糖體 ITS1, 所重建之系統發生樹指出有 Nauru 型生物小種 (De Barro *et al.*, 2000) 存在; 隨後利用粒線體 16S rDNA 重建之系統發生樹, 則顯示臺灣地區亦有 An 及 B 型生物小種分佈 (Hsieh *et al.*, 2005)。此外, 粒線體 COI 所重建之系統發生樹指出, Nauru 與 An 型則為本土分佈的生物小種, 而 B 型生物小種為外來入侵者, 但並未有 Q 型生物小種 (Hsieh *et al.*, 2006)。

入侵 B 型生物小種藉由聖誕紅作物貿易擴散到全世界並造成嚴重危害, 近期 Q 生物小種依照相同模式成為入侵生物, 尤其是隨著聖誕節的到來, 全球聖誕紅作物貿易的頻繁將造成新一波 Q 型生物小種的入侵事件 (Dalton, 2006)。煙草粉蝨能成為成功入侵者, 主要是藉著非對稱性交配互動, 煙草粉蝨的性別決定機制為單雙套系統, 入侵的生物小種會增加交配頻率, 使卵受精率增加並產生大量雌性後代, 同時入侵生物小種的雄性亦會向本土生物小種的雌性求偶, 干擾交配的行為模式使得本土生物小種交配率與卵受精率下降並造成後代雌性減少, 進而達到競爭取代目的 (Liu *et al.*, 2007)。

Q 型生物小種目前已入侵到中國、韓國和日本等地並擴散至野外 (Zhang *et al.*, 2005; Ueda and Brown, 2006; Hsieh *et al.*, 2007), 而臺灣地區目前僅在聖誕紅溫室內偵測到新入侵 Q 型生物小種 (Hsieh *et al.*,

2007)。因此，本研究參考部分文獻後，篩選出 SCAR 及 CAPS 等能快速準確鑑定的分子特徵，並針對 Q 型生物小種進行野外偵測，判定目前入侵事件的情形，期望能提早防治以防範成爲成功入侵者，避免造成臺灣地區農業上的損失。

## 材料與方法

### 一、粉蝨標本之採集與保存

自 2006 年 1 月到 2008 年 7 月全面採集臺灣地區煙草粉蝨樣本共 481 筆，利用寄主植物上之粉蝨 4 齡若蟲形態來鑑定種類，確定爲煙草粉蝨後將成蟲浸泡於 95% 酒精中，並置於 -20°C 冷凍櫃保存。同時向國外專家交換或索取煙草粉蝨 Q 型生物小種樣本提供比對，包括來自西班牙、荷蘭、賽普勒斯、以色列及日本的樣本。

### 二、粉蝨基因組 DNA 之萃取

供試之粉蝨成蟲自酒精中取出，利用二次蒸餾水洗去蟲體上之酒精，取一隻蟲體置於 1.5 ml 離心管中，根據 De Barro and Driver (1997) 之方法，加入 10  $\mu$ l lysis buffer，以研磨棒將蟲體磨碎；再次加入 15  $\mu$ l lysis buffer 並混合均勻，以 65°C 水浴 30 分鐘後，冷卻至室溫並離心將溶液集中；以 100°C 水浴 10 分鐘，冷卻至室溫後，加入 25  $\mu$ l 之二次蒸餾水，即完成煙草粉蝨 DNA 之萃取，並將其置於 -20°C 冷凍櫃中保存待用。

### 三、應用序列特徵化增幅區域 (Sequence characterized amplified region, SCAR) 鑑定生物小種

煙草粉蝨生物小種序列特徵化增幅區域 (SCAR) 用來進行生物小種之鑑定 (Ko *et al.*,

2007)。B 型生物小種 SCAR 引子組爲：BaBF (5'-CCACTATAATTATTGCTGTTCC CACA-3')/L2-N-3014 (5'-TCCAATGCACTA ATCTGCCATATTA-3')；Q 型生物小種 SCAR 引子組爲：BaQF (5'-GAAGCAACG CACTACTTACAA-3')/BaQR (5'-TTCTCGG CGTTTTTACCAA-3')。反應總體積爲 25  $\mu$ l 置於 0.2 ml 微量離心管中，包括 0.15  $\mu$ M 的 dNTPs，2.5 mM 的 MgCl<sub>2</sub>，0.75 U 的 Taq DNA polymerase，兩引子各 0.6  $\mu$ M，2.5  $\mu$ l 的 10x Taq reaction buffer 及模板 DNA 50 ng。以 ABI-2700 型聚合酶連鎖反應器進行 PCR 反應。PCR 之反應條件爲：預熱 94°C 5 分鐘；再以 94°C 1 分鐘變性，62°C 1 分鐘黏合，72°C 1 分鐘延伸，進行 35 個循環；最後以 72°C 反應 10 分鐘。PCR 產物以含溴化乙錠 (*Ethidium Bromide*, EtBr) 之 TAE 緩衝溶液，用 1% 之瓊脂電泳膠片進行電泳分析，於 UV 光下觀察、拍照並觀察其擴增片段。

### 四、應用限制酵素切割擴增片段多型性 (cleaved amplified polymorphic sequence, CAPS) 鑑定 B/Q 型生物小種

利用 Khasdan *et al.* (2005) 所發表之三組引子組加上限制酶切割增幅片段來鑑定 B 和 Q 型生物小種，在 0.2 ml 之微量離心管之反應總體積爲 50  $\mu$ l。PCR 之反應條件爲：預熱 94°C 2 分鐘；再以 94°C 1 分鐘變性，52°C 1 分鐘黏合，72°C 1 分鐘延伸，進行 30 個循環；最後以 72°C 反應 10 分鐘。D1-Q6/R1-Q6 引子組可增幅出約 477 bp，利用限制酶 *MspI* 來區別 B 和 Q 生物小種；D1-Q6/R2-Q6 引子組可增幅出約 683 bp，利用限制酶 *MspI* 來區別 B 和 Q 型生物小種；粒線體 COI 引子組 C1-J-2195/L2-N-

3014 (Frohlich *et al.*, 1999) 可增幅出約 816 bp，利用限制酶 *VspI* 來區別 B 和 Q 生物小種。

#### 五、粒線體細胞色素氧化酶第 1 次單元序列 (cytochrome oxidase subunit I, COI) 之複製定序

依據 Frohlich *et al.* (1999) 所使用的引子組 C1-J-2195/L2-N-3014 增幅粒線體 COI 序列，並將所增幅出之序列進行定序。

#### 六、DNA 序列之比對與排序

臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種粒線體 COI 之序列 (TaiwanTNQ, DQ989547)，使用 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 之 BLAST 工具進行序列之比對，以確定是否為煙草粉蝨粒線體 COI 序列，並比對出最相似的生物小種。此外，自 GenBank 下載煙草粉蝨之序列 (表一)，並以紫背草唇粉蝨 (*Lipaleyrodes emiliae*) (DQ989555) 為外群。全部序列利用 Clustal X (1.8) 軟體 (<http://bips.u-strasbg.fr/fr/Documentation/ClustalX/#G>) 進行序列排序，並用 BioEdit 軟體 (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/page2.html>) 與 GeneDoc 軟體 (<http://www.psc.edu/biomed/genedoc/>) 進行校正，隨後進行系統發生樹之建立。

#### 七、系統發生樹之建立

本研究利用貝葉氏導出式 (Bayesian inference (Yang and Rannala, 1997)) 來重建系統發生樹。MrMODELTEST version 2.2 (Nylander, 2004) 用來搜尋最適合之核苷酸替換模式，Akaike information criterion (AIC) 準則選出 GTR + G model 為最佳模式。MrBayes version 3.1.2 程式

(Huelsenbeck and Ronquist, 2001) 用來重建系統發生樹，以 Metropolis-coupled Markov chain Monte Carlo analyses 進行運算。隨機選取的樹為起始樹，總共運算  $1 \times 10^6$  generations，而每 100 generations 取樣一次，並刪除前面未達穩定的  $1 \times 10^5$  generations，重建之系統發生樹以 50% 多數決共同樹來表示，而分支節點值為後檢驗概率值表支持程度。

## 結 果

#### 一、臺灣地區煙草粉蝨生物小種之採樣

全面採集臺灣地區煙草粉蝨，2006～2008 年共採樣 481 筆資料，B 型生物小種佔 275 筆 (57%)，Nauru 型生物小種佔 125 筆 (26%) 和 An 型生物小種佔 72 筆 (15%) 筆。此外，亦在宜蘭、桃園、苗栗、南投及臺南的聖誕紅溫室內共發現 9 筆 (2%) 未知的生物小種，經分子鑑定後確認為 Q 型生物小種。

#### 二、應用分子標識鑑定生物小種

由於臺灣地區所發現之 9 筆 Q 型生物小種，應用分子標識鑑定後皆產生相同圖譜，因此本研究僅以臺南所採獲之樣本來代表所有樣本進行分子鑑定研究。

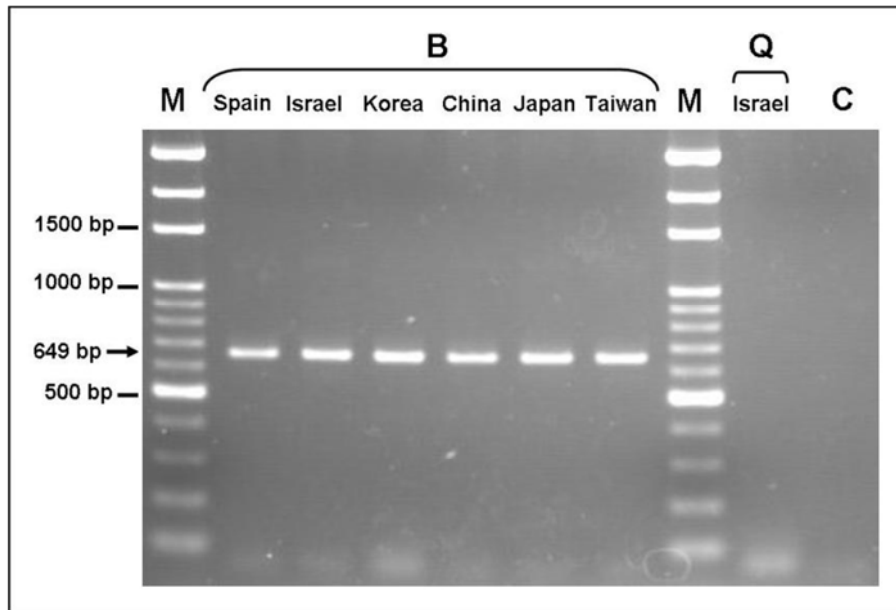
應用 SCAR 來鑑定煙草粉蝨 B/Q 型生物小種，結果顯示 B/Q 型 SCAR 引子組皆能成功鑑定出標的生物小種。BaBF/L2-N-3014 引子組能針對 B 型生物小種增幅出一條長度約 649 bp 的特徵化序列 (圖一)。BaQF/BaQR 引子組能針對 Q 型生物小種增幅出特徵化序列，主要序列長度為 892 bp (圖二)。

應用三組 CAPS marker 皆能成功鑑定

表一 本研究供試之煙草粉蠹粒線體 COI 基因序列

Table 1. Mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) sequences of *Bemisia tabaci* in this study

Acronym	Biotype	GenBank accession no.	Location
AustraliaBF5	B	DQ174535	Australia
ArizonaB	B	AY057123	USA, Arizona
SouthAfricaB	B	AY057140	South Africa
FranceB	B	AJ550170	France, Antibes
ArgentinaB	B	AF340215	Argentina, Buenos Aires
UgandaB	B	AY903569	Uganda, Namulonge
SpainF32B	B	DQ989551	Spain
IsraelF60B	B	DQ989552	Israel
ChinaBeijingB	B	DQ989523	China, Beijing
ChinaHainanB	B	AY518187	China, Hainan
KoreaGoyangB	B	DQ989531	Korea, Goyang
JapanHARB	B	AB204581	Japan, Kochi
JapanMATB	B	AB204582	Japan, Chiba
JapanKOSB	B	AB204578	Japan, Kumamoto
JapanKAKB	B	AB204580	Japan, Kagoshima
TaiwanHLB	B	DQ989539	Taiwan, Hualien
TaiwanCYB	B	DQ989535	Taiwan, Chiayi
TurkeyQ	Q	AF342776	Turkey
FranceQ	Q	AM180063	France, Roussillon
AlgeriaQ	Q	AM176575	Algeria, Biskra
MoroccoQ	Q	AM176573	Morocco, Biougra
Cameroon Q	Q	AF344258	Cameroon, Banga-Bakundu
ZimbabweQ	Q	AF344285	Zimbabwe, Mazowe
SudanQ	Q	AY827613	Sudan,
NetherlandsF13Q	Q	DQ174541	The Netherlands
SpainF7Q	Q	DQ174539	Spain
CyprusF42Q	Q	DQ989553	Cyprus
IsraelF61Q	Q	DQ989554	Israel
ChinaBeijingQ	Q	AY582872	China, Beijing
ChinaHeNanQ	Q	AY587514	China, Henan
ChinaYunnanQ	Q	AY518189	China, Yunnan
KoreaBuyeoQ	Q	DQ462583	Korea, Buyeo
KoreaWhaseongQ	Q	DQ462586	Korea, Whaseong
JapanMYJQ	Q	AB204586	Japan, Kagoshima
JapanKyushuQ	Q	DQ989546	Japan, Miyazaki
JapanNSGQ	Q	AB204579	Japan, Kumamoto
TaiwanTNQ	Q	DQ989547	Taiwan, Tainan
USAGeorgiaQ	Q	EF080823	USA, Georgia
Nepal	Nauru	AF342779	Nepal
TaiwanNauru1	Nauru	DQ174518	Taiwan, Hsinchu
TaiwanNauru2	Nauru	DQ174519	Taiwan, Chiayi
TaiwanNauru3	Nauru	DQ174520	Taiwan, Taitung,
TaiwanNauru4	Nauru	DQ174521	Taiwan, Kaohsiung
ChinaNauru1	Nauru	DQ174522	China, Jiangsu
ChinaNauru2	Nauru	DQ174523	China, Guangdong
Indonesia	Nauru	DQ174524	Indonesia
AustraliaAn	An	DQ174529	Australia
TaiwanAn2	An	DQ174526	Taiwan, Kaohsiung
TaiwanAn3	An	DQ174527	Taiwan, Hualien
TaiwanAn4	An	DQ174528	Taiwan, Hsinchu
ChinaAn	An	AF342777	China
Malaysia	An	AY057137	Malaysia
India1	An	AJ748365	India, Karnataka
India3	An	AJ748360	India, Karnataka
Thailand	An	AF164670	Thailand



圖一 SCAR 鑑定煙草粉蝨生物小種，BaBF/L2-N-3014 引子組用來鑑定 B 型生物小種。M：Bio100 DNA Ladder™；C：無 DNA 模版的控制組。B 型生物小種樣本來自西班牙、以色列、韓國、中國、日本及臺灣，Q 型生物小種來自以色列。

Fig. 1. Sequence characterized amplified region (SCAR) analysis based on the primer set of BaBF/L2-N-3014 to identify biotype B of *Bemisia tabaci*. M, Bio100 DNA Ladder™; C, control without DNA template; B, samples of biotype B from Spain, Israel, Korea, China, Japan, and Taiwan; Q, samples of biotype Q from Israel.

B/Q 型生物小種。D1-Q6/R1-Q6 引子組所增幅出約 477 bp，利用限制酶 *MspI* 切割後，B 型生物小種的主要條帶為 370 bp，Q 型生物小種主要條帶約為 400 bp (圖三)。D1-Q6/R2-Q6 引子組可增幅出約 683 bp，利用限制酶 *MspI* 切割後，B 型生物小種的序列長度約為 650 bp，Q 型生物小種序列長度約為 580 bp (圖四)。粒線體 COI 引子組 C1-J-2195 /L2-N-3014 可增幅出約 816 bp，利用限制酶 *VspI* 切割後，B 與 Q 型生物小種會產生明顯不同的多形態圖譜 (圖五)。

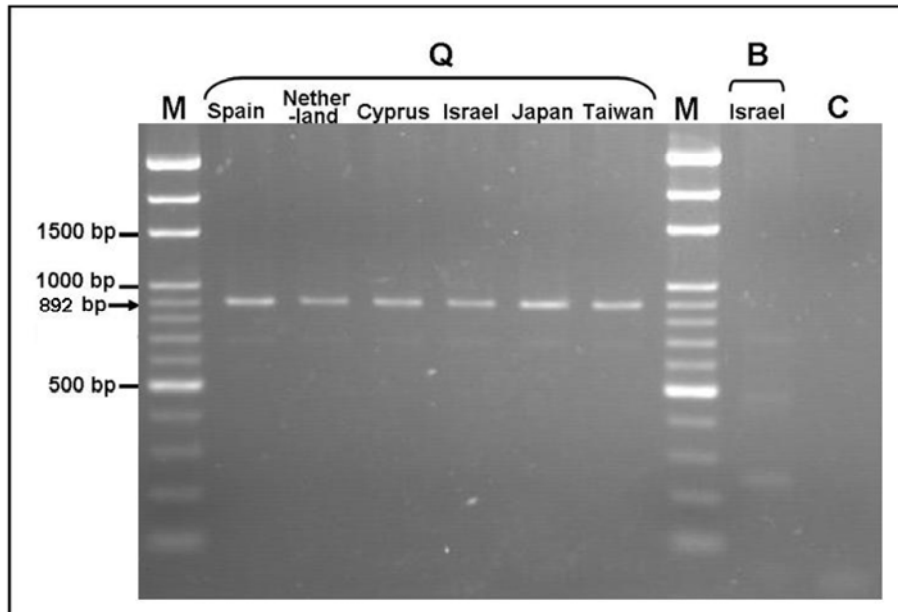
### 三、煙草粉蝨生物小種系統發生樹

臺灣地區聖誕紅溫室內採獲之 9 筆 Q 型生物小種，粒線體 COI 序列相似度為

100%，因此僅取臺南樣本的序列來代表 (TaiwanTNQ, DQ989547)，利用 NCBI 之 BLAST 比對後，搜尋出最相似於煙草粉蝨 Q 型生物小種，序列相似度為 99%。粒線體 COI 序列經過排序後，根據貝葉氏導出式所重建之系統發生樹 (圖六)，可明確區分出臺灣地區分佈之 B、An 和 Nauru 型生物小種，以及新入侵之 Q 型生物小種。臺灣地區之新入侵 Q 型生物小種與西北太平洋地區樣本及歐洲樣本歸在同一群，序列相似度為 99~100%，群內無明顯差異，無法判定其起源地。

### 討 論

臺灣地區全面採集煙草粉蝨，除了原本有



圖二 SCAR 鑑定煙草粉蝨生物小種，BaQF/BaQR 引子組用來鑑定 Q 型生物小種。M：Bio100 DNA Ladder™；C：無 DNA 模版的控制組。Q 型生物小種樣本來自西班牙、荷蘭、賽普勒斯、以色列、日本及臺灣，B 型生物小種來自以色列。

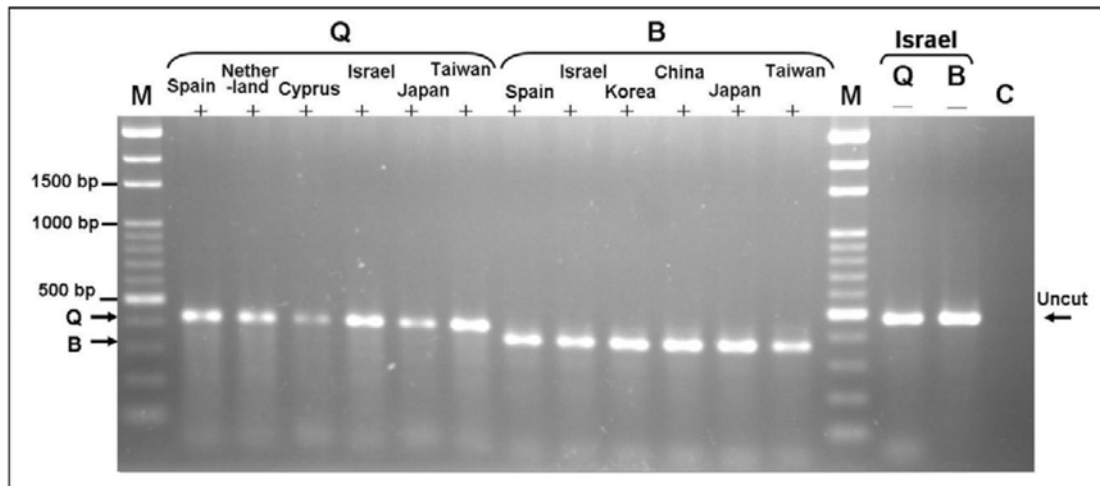
Fig. 2. Sequence characterized amplified region (SCAR) analysis based on the primer set of BaQF/BaQR to identify biotype Q of *Bemisia tabaci*. M, Bio100 DNA Ladder™; C, control without DNA template; Q, samples of biotype Q from Spain, The Netherlands, Cyprus, Israel, Japan, and Taiwan; B, samples of biotype B from Israel.

紀錄的 B、Nauru 和 An 型生物小種外，利用 SCAR、CAPS 分子鑑定與系統發生樹皆證實臺灣地區聖誕紅溫室已有新入侵煙草粉蝨 Q 型生物小種，而這些溫室彼此間有聖誕紅種苗交易，亦為造成此害蟲在聖誕紅溫室間散播之原因。Q 型生物小種於伊比利半島最早發現，過去記錄僅分佈於地中海周圍地區 (De la Rúa *et al.*, 2006)；近年來被報導為新興入侵生物，預期將隨著聖誕紅的世界貿易造成全球性之入侵危害 (Dalton, 2006)。目前 Q 型生物小種被證實已成功入侵到環太平洋地區之美國、墨西哥、中國、日本、韓國，並在這些國家立足為可自我維持族群之害蟲，更造成農業損失 (Zhang *et al.*, 2005; Ueda and Brown, 2006; Hsieh *et al.*, 2007; Martinez-

Carrillo and Brown, 2007)。臺灣地區之 Q 型生物小種目前僅在溫室發現，尚未在野外偵測到，屬於入侵初期尚未建立可自我維持之族群，因此目前定位為外來生物，預期有高風險性成為入侵有害生物。

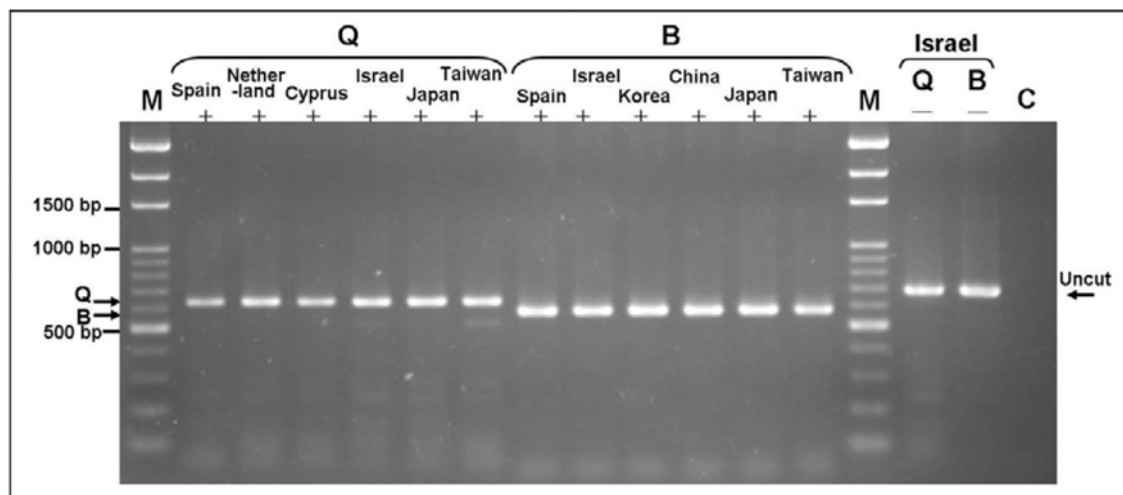
東亞地區之入侵 B 型生物小種存在著多次入侵的現象 (Hsieh *et al.*, 2006)，西北太平洋地區之 Q 型生物小種亦有多次入侵的現象 (Hsieh *et al.*, 2007)，推測入侵之煙草粉蝨生物小種需藉著多次入侵來達到成功立足。臺灣新入侵 Q 型生物小種供試樣本間之粒線體 COI 序列相似度為 100%，推測為單一入侵事件。生物入侵之狀態可分為四個主要時期：進口 (import)、引入 (introduction)、立基 (establishment) 和危害 (pest)；每一個時期





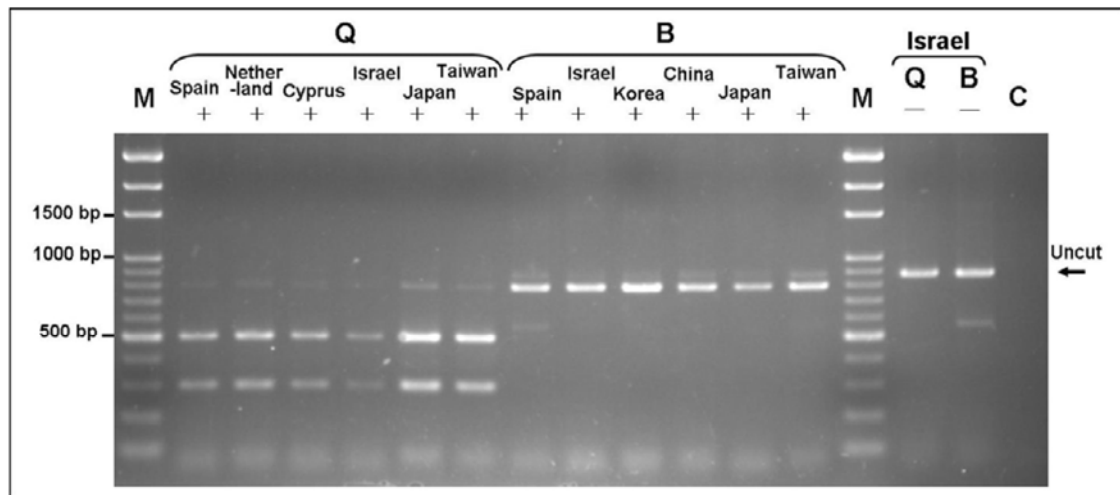
圖三 CAPS 多形態圖譜鑑定煙草粉蝨生物小種，D1-Q6/R1-Q6 所增幅序列利用 *MspI* 酵素切割後的電泳圖，(+) 為切割反應後，(-) 為切割反應前。M：Bio100 DNA Ladder™；C：無 DNA 的控制組。Q 型生物小種樣本來自西班牙、荷蘭、賽普樂斯、以色列、日本及臺灣。B 型生物小種樣本來自西班牙、以色列、韓國、中國、日本及臺灣。

Fig. 3. Cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) analysis based on the primer set of D1-Q6/R1-Q6 (uncut (-) or digested with *MspI* (+)). M, Bio100 DNA Ladder™; C, control without DNA template; Q, samples of biotype Q from Spain, The Netherlands, Cyprus, Israel, Japan, and Taiwan; B, samples of biotype B from Spain, Israel, Korea, China, Japan, and Taiwan.



圖四 CAPS 多形態圖譜鑑定煙草粉蝨生物小種，D1-Q6/R2-Q6 所增幅序列利用 *MspI* 酵素切割，(+) 為切割反應後，(-) 為切割反應前。M：Bio100 DNA Ladder™；C：無 DNA 的控制組。Q 型生物小種樣本來自西班牙、荷蘭、賽普樂斯、以色列、日本及臺灣。B 型生物小種樣本來自西班牙、以色列、韓國、中國、日本及臺灣。

Fig. 4. Cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) analysis based on the primer set of D1-Q6/R2-Q6 (uncut (-) or digested with *MspI* (+)). M, Bio100 DNA Ladder™; C, control without DNA; Q, samples of biotype Q from Spain, The Netherlands, Cyprus, Israel, Japan, and Taiwan; B, samples of biotype B from Spain, Israel, Korea, China, Japan, and Taiwan.



圖五 CAPS 多形態圖譜鑑定煙草粉蝨生物小種，C1-J-2195/L2-N-3014 所增幅序列利用 *VspI* 酵素切割，(+) 為切割反應後，(-) 為切割反應前。M：Bio100 DNA Ladder™；C：無 DNA 的控制組。Q 型生物小種樣本來自西班牙、荷蘭、賽普勒斯、以色列、日本及臺灣。B 型生物小種樣本來自西班牙、以色列、韓國、中國、日本及臺灣。

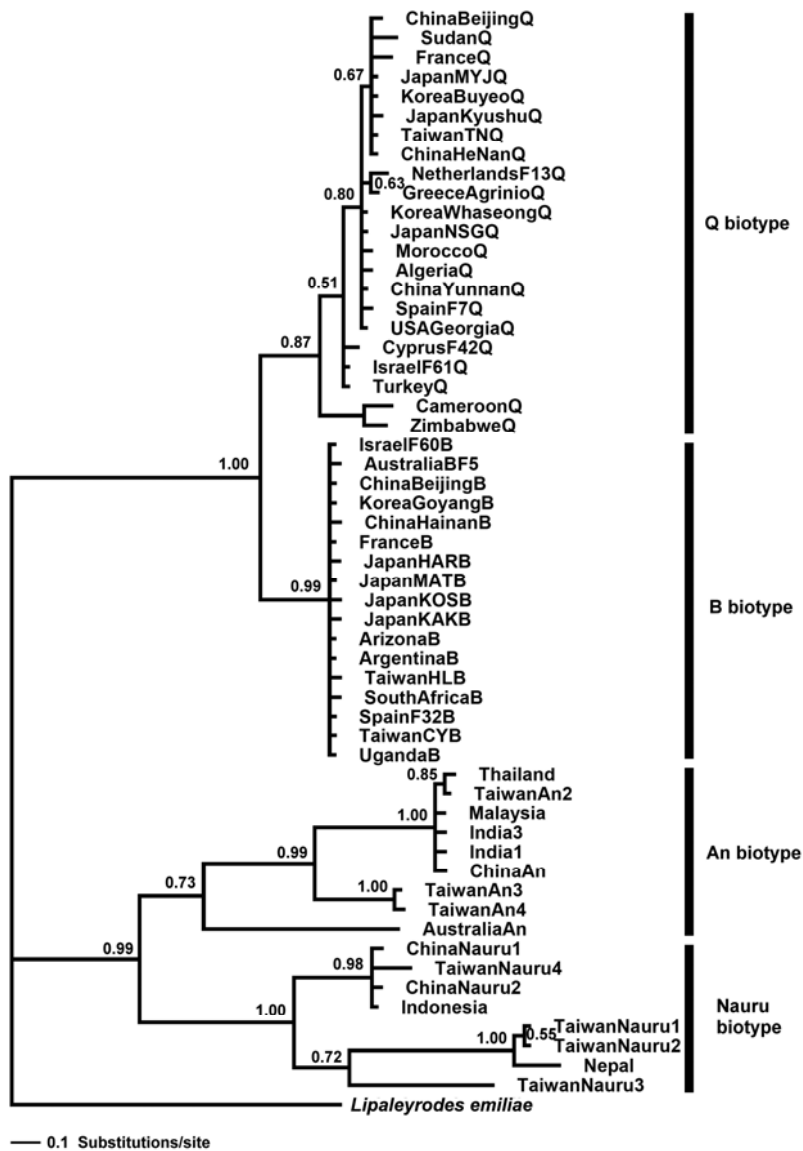
Fig. 5. Cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) analysis based on the primer set of C1-J-2195/L2-N-3014 (uncut (-) or digested with *VspI* (+)). M, Bio100 DNA Ladder™; C, control without DNA template; Q, samples of biotype Q from Spain, The Netherlands, Cyprus, Israel, Japan, and Taiwan; B, samples of B biotype from Spain, Israel, Korea, China, Japan, and Taiwan.

轉移到另一個時期的成功機率為 10%。臺灣地區之新入侵 Q 型生物小種目前介於進口與引入階段，尚未建立族群亦未成為有害生物。根據入侵生物學之十分之一法則 (The tens rule) (Williamson and Fitter, 1996)，外來生物從入侵到造成危害是機率很低的事件，通常需藉著一段時間內多次入侵才有可能成為有害生物。因此須加強進口檢疫偵測，防範此害蟲入侵造成農業上的損失。

可以預期，Q 型生物小種如同 B 型生物小種會造成嚴重危害。此外，Q 型生物小種對新尼古丁菸鹼類 (Neonicotinoids) 殺蟲劑，具有極高的抗藥性，而 B 型生物小種則對昆蟲生長調節劑類殺蟲劑 (Insect Growth Regulators, IGR) 具有高度抗藥性；當 B 與 Q 型生物小種共存時，彼此會因季節交替即使用殺蟲劑類型而互有消長，造成一年四季皆有

煙草粉蝨危害，會導致農業經濟上相當大的損失 (Horowitz *et al.*, 2005; Khasdan *et al.*, 2005)。因此當 B 與 Q 型生物小種共域時，目前僅能以綜合防治概念，利用黃色黏紙誘引成蟲進行物理性防治，同時施用四種以上不同藥性種類的殺蟲劑輪流進行防治，避免抗藥性產生，期望能控制住此害蟲之擴散與危害。

美國農業部動植物檢疫局 (United States Department of Agriculture-Animal and Plant Health Inspection Service, USDA-APHIS) 針對新入侵 Q 型生物小種成立臨時委員會，架設網站提供相關資訊 (<http://mrec.ifas.ufl.edu/LSO/bemisia/bemisia.htm>)，同時針對此害蟲進行偵測，目前已確認入侵美國 25 個州，並提供適當之蟲害管理方法進行防治。臺灣地區新入侵 Q 型生物小種，利用分子標識達到快速鑑定之目的，入



圖六 煙草粉虱粒線體 COI 基因序列利用貝葉氏導出式所重建之系統發生樹，分支節點值為後檢驗概率值表支持程度。紫背草唇粉虱為外群。

Fig. 6. Phylogenetic tree of mitochondrial cytochrome oxidase I sequences for *Bemisia tabaci* based on Bayesian inferences. Numbers at the nodes are the posterior probability values. The outgroup was *Lipaleyrodos emiliae*.

侵初期即偵測到此害蟲，加上外來生物立足為機率很低的事件，因此如能積極進行防治處理，將可有效防堵成為入侵有害生物。B 型生物小種已廣泛分佈於臺灣地區並造成農業損

失 (Hsieh *et al.*, 2005, 2006, 2007)，如果 Q 型生物小種成為成功入侵者，將造成更嚴重的農業經濟損失。因此必須針對 Q 型生物小種進行檢疫上之偵測以防範入侵，避免來自不同

族群或地區之煙草粉蝨混居造成遺傳多樣性的提升。

## 誌 謝

本研究承蒙臺灣大學昆蟲學系陳俊宏、陳陽發、施圓通和蔡馨儀等於標本採集上的協助，並感謝葛琳博士（亞洲蔬菜研究發展中心病毒組，臺南縣，臺灣）、辛竹英博士（屏東科技大學植物保護研究所，屏東縣，臺灣）、羅晨博士和郭曉軍（北京市農林科學院植物保護環境保護研究所，中國）、邱寶利博士（華南農業大學生物資源學院，廣東省，中國）、劉樹生博士（浙江大學應用昆蟲學研究所，浙江省，中國）、Dr. S. J. Suh (National Plant Quarantine Service, Goyang, South Korea)、Dr. A. R. Horowitz (Department of Entomology, Agricultural Research Organization, Gilat Research Center, Israel)、Dr. K. I. Honda (National Institute of Vegetable and Tea Science, Japan) 和 Dr. S. Ueda (National Agricultural Institute for Kyushu Okinawa Region, Japan) 提供之材料。本研究承行政院國家科學委員會 (NSC95-2621-B-002-0120) 和農業委員會動植物防疫檢疫局 (96農科-14.3.1-檢-B2) 之經費補助，謹以致謝。

## 引用文獻

- Boykin, L. M., R. G. Shatters Jr., R. C. Rosell, C. L. McKenzie, R. Ann Bagnall, P. De Barro, and D. R. Frohlich. 2007. Global relationships of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) revealed using Bayesian analysis of mitochondrial COI DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 44: 1306-1319.
- Brown, J. K., D. R. Frohlich, and R. C. Rosell. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annu. Rev. Entomol.* 40: 511-534.
- Byrne, F. J., and A. L. Devonshire. 1991. *In vivo* inhibition of esterase and acetylcholinesterase activities by profenofos treatments in the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.): implications for routine biochemical monitoring of these enzymes. *Pesticide Biochem. Physiol.* 40: 198-204.
- Cervera, M. T., J. A. Cabezas, B. Simon, J. M. Martinez-Zapater, F. Beitia, and J. L. Cenis. 2000. Genetic relationships among biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) based on AFLP analysis. *Bull. Entomol. Res.* 90: 391-396.
- Dalton, R. 2006. The christmas invasion. *Nature* 443: 898-900.
- De Barro, P. J., and F. Driver. 1997. Use of RAPD to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Aust. J. Entomol.* 36: 149-152.
- De Barro, P. J., J. W. H. Trueman, and D. R. Frohlich. 2005. *Bemisia argentifolii* is a race of *B. tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): the molecular genetic differentiation of *B. tabaci* populations around the world. *Bull. Entomol. Res.* 95: 193-203.
- De Barro, P. J., F. Driver, J. W. H. Trueman,

- and J. Curran. 2000. Phylogenetic relationships of world populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) using ribosomal ITS1. *Mol. Phylogenet. Evol.* 16: 29-36.
- De la Rúa, P., B. Simón, D. Cifuentes, C. Martínez-Mora, and J. L. Cenis. 2006. New insights into the mitochondrial phylogeny of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in the Mediterranean Basin. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 44: 25-33.
- Delatte, H., B. Reynaud, M. Granier, L. Thornary, J. M. Lett, R. Goldbach, and M. Peterschmitt. 2005. A new silverleaf-inducing biotype Ms of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) indigenous to the islands of the south-west Indian Ocean. *Bull. Entomol. Res.* 95: 29-35.
- Frohlich, D. R., I. Torres-Jerez, I. D. Bedford, P. G. Markham, and J. K. Brown. 1999. A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Mol. Ecol.* 8: 1683-1691.
- Horowitz, A. R., S. Kontsedalov, V. Khasdan, and I. Ishaaya. 2005. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 58: 216-225.
- Hsieh, C. H., C. H. Wang, and C. C. Ko. 2005. Identification of biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Taiwan based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Formosan Entomol.* 25: 255-267. (in Chinese)
- Hsieh, C. H., C. H. Wang, and C. C. Ko. 2006. Analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) species complex and distribution in Eastern Asia based on mitochondrial DNA markers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99: 768-775.
- Hsieh, C. H., C. H. Wang, and C. C. Ko. 2007. Evidence from molecular markers and population genetic analyses suggest recent invasions of the Western North Pacific region by biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Environ. Entomol.* 36: 952-961.
- Huelsenbeck, J. P., and F. Ronquist. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Jones, C. M., K. Gorman, I. Denholm, and M. S. Williamson. 2008. High-throughput allelic discrimination of B and Q biotypes of the whitefly, *Bemisia tabaci*, using TaqMan allele-selective PCR. *Pest Manag. Sci.* 64: 12-25.
- Khasdan, V., I. Levin, A. Rosner, S. Morin, S. Kontsedalov, L. Maslenin, and A. R. Horowitz. 2005. DNA markers for identifying biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and studying population dynamics. *Bull. Entomol. Res.* 95: 605-613.
- Ko, C. C., Y. C. Hung, and C. H. Wang. 2007. Sequence characterized amplified region markers (SCARs) for biotypes of *Bemisia tabaci*. (Hemiptera: Aleyrodidae).

- J. Appl. Entomol. 131: 542-547.
- Liu, S. S., P. J. De Barro, J. Xu, J. B. Luan, L. S. Zang, Y. M. Ruan, and F. H. Wan.** 2007. Asymmetric mating interactions drive widespread invasion and displacement in a whitefly. *Science* 318: 1769-1772.
- Martinez-Carrillo, J. L., and J. K. Brown.** 2007. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in southern Sonora, Mexico. *Phytoparasitica* 35: 282-284.
- Nylander, J. A. A.** 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolution Biology Centre, Uppsala University, Uppsala, Sweden.
- Perring, T. M.** 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot.* 20: 725-737.
- Simón, B., J. L. Cenis, and P. De La Rúa.** 2007. Distribution patterns of the Q and B biotypes of *Bemisia tabaci* in the Mediterranean Basin based on microsatellite variation. *Entomol. Exp. Appl.* 124: 235-347.
- Tsagkarakou, A., C. S. Tsigenopoulos, K. Gorman, J. Lagnel, and I. D. Bedford.** 2007. Biotype status and genetic polymorphism of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Greece: mitochondrial DNA and microsatellites. *Bull. Entomol. Res.* 97: 29-40.
- Ueda, S., and J. K. Brown.** 2006. First report of Q biotype of *Bemisia tabaci* in Japan by mitochondrial cytochrome oxidase I sequence analysis. *Phytoparasitica* 34: 405-411.
- Williamson, M. H., and A. Fitter.** 1996. The characters of successful invaders. *Biol. Conserv.* 78: 163-170.
- Yang, Z., and B. Rannala.** 1997. Bayesian phylogenetic inference using DNA sequences: a Markov chain Monte Carlo method. *Mol. Biol. Evol.* 14: 717-724.
- Zhang, L. P., Y. J. Zhang, W. J. Zhang, Q. J. Wu, B. Y. Xu, and D. Chu.** 2005. Analysis of genetic diversity among different geographical populations and determination of biotypes of *Bemisia tabaci* in China. *J. Appl. Entomol.* 129: 121-128.

收件日期：2008年9月3日

接受日期：2008年11月9日

# Identification of a New Invasive Q Biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Taiwan by Molecular Markers

Chia-Hung Hsieh, Fu-Sheng Wu, Yi-Hsien Chiang, Hua-Te Fang, and Chiun-Cheng Ko\*

Department of Entomology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

## ABSTRACT

*Bemisia tabaci* (Gennadius), among the top 100 world's worst invasive alien species, causes serious agricultural damage. It is divided into many biotypes. Biotype Q, which originated in the Mediterranean region, is a new invader in Taiwan which has been transmitted by poinsettia and has caused great economic losses in the USA, Mexico, China, and Japan. In this study, 481 samples were collected in Taiwan. Molecular markers identified not only the indigenous An and Nauru biotypes and the invasive B biotype but also the new invasive biotype Q were found. Sequence characterized amplified region (SCAR) analysis, cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) markers, and a phylogenetic tree based on the mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) support the new invasive biotype Q being present in Taiwan. However, biotype Q is not being monitored in the field, and we hypothesize that it is in the early stages of invasion. Biotypes B and Q of *B. tabaci* have different inherent levels of resistance to insecticides, thus their coexistence will not be easy to control. Therefore, a quarantine of agricultural crops will be necessary to prevent future multiple invasions of biotype Q in Taiwan and avoid potentially serious agricultural economic losses.

**Key words:** pest, whitefly, poinsettia, biological invasion, molecular marker