



# Formosan Entomologist

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

## Genetic Variation of Thrips *tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in the Pacific Rim 【Research report】

### 環太平洋地區蔥薊馬 (Thysanoptera, Thripidae, Thrips *tabaci* Lindeman) 之遺傳變異【研究報告】

Li-Yueh Tseng<sup>1</sup>, Niann-Tai Chang<sup>1</sup>, Mei-Jung Tseng<sup>2</sup>, and Wen-Bin Yeh<sup>2\*</sup>  
曾麗月<sup>1</sup>、張念台<sup>1</sup>、曾美蓉<sup>2</sup>、葉文斌<sup>2\*</sup>

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

Received: 2010/08/16 Accepted: 2010/09/13 Available online: 2010/09/01

#### Abstract

Thrips *tabaci* Lindeman with different characteristics of body color and number of setae are commonly found in imported agricultural products. It is a cosmopolitan pest, and is considered to contain three morphospecies. In this study, both genes of the nuclear internal transcribed spacer 2 (ITS2) region and mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) of onion thrips collected from the Pacific Rim area are used in the genetic diversity analysis. For the Pacific Rim countries the greatest difference in COI sequences, more than 2%, is found in the New Zealand population. Two major haplotype groups were found in the statistical parsimony analysis. One is the haplotype from the coastline of the Americas including the USA, Peru, and Mexico, and the other is from west Pacific countries including China, Japan, and Taiwan. The compilation of sequences in this study and those from the genbank indicate that the greatest variability of COI genes is found in the European population, where three distinct phylogenetic lineages can be found. Lineage A constitutes most of the individuals from Europe, those from lineage C definitely come from Europe, and those from the Pacific Rim mostly fall in lineage B which is a cosmopolitan group. For the ITS sequences, the greatest difference, up to 16%, is found in the population of the United Kingdom. The statistical parsimony network suggests that there is a close affinity in haplotypes among the populations of England, New Zealand, and Japan. Genetic analyses of both genes indicate that *T. tabaci* in Taiwan constitutes only one of the different populations in the world. Thus, the introduction of foreign *T. tabaci* populations should be prevented to try and reduce their hybridization with local population, which may result in serious economic damage.

#### 摘要

蔥薊馬 (*Thrips tabaci* Lindeman) 為世界性分佈害蟲，其體色多態且翅上毛列變異大，為進口農作上最常見的害蟲，已有學者認為蔥薊馬為複合種群含有 3 個形態種。本實驗收集與台灣貿易往來較密切的環太平洋地區國家的蔥薊馬，複製粒線體 COI 及核糖體 ITS2 序列，進行遺傳變異分析。環太平洋地區各國蔥薊馬 COI 序列以紐西蘭的族群變異最大，差異都在 2% 以上，其次為日本的族群，其餘各國序列變異大小相近；網狀儉約分析則顯示有兩個主要的 COI 基因單型，其一是美洲地區的美國、祕魯及墨西哥，另一則是西太平洋的中國、台灣及日本。若將環太平洋地區與基因庫上蔥薊馬的 COI 一起分析，則發現歐洲地區的個體變異最大，而親緣分析則顯示全世界的蔥薊馬有 3 個截然不同的演化支系，支系 A 的成員主要來自歐洲；支系 B 內有世界各地的蔥薊馬，太平洋周邊國家，除日本及紐西蘭外，幾乎都屬支系 B；支系 C 的成員則全部來自歐洲。環太平洋地區蔥薊馬 ITS2 序列與英國地區序列差異高達 16%，而環太平洋地區蔥薊馬 ITS2 序列變異則有限，最大的變異族群出現在泰國，其與各國族群變異多在 1.5% 以上；ITS2 序列儉約網狀基因單型則顯示英國、紐西蘭、澳大利亞及日本間有較高的相關性。本研究分析 COI 及 ITS 序列顯示全世界的蔥薊馬有很高的分化，而台灣的族群僅屬於其中一支系，需嚴防其它支系的蔥薊馬個體進入台灣，以免產生雜交改變原有蔥薊馬族群之基因組成，避免更大危害。

**Key words:** Thrips *tabaci*, internal transcribed spacer 2, mitochondrial cytochrome oxidase subunit I, genetic variation

**關鍵詞:** 蔥薊馬、核糖體第二間區、細胞色素氧化酶次單位元一、遺傳變異。

Full Text: [PDF \(1.44 MB\)](#)

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

# 環太平洋地區蔥薊馬 (*Thysanoptera*, *Thripidae*, *Thrips tabaci* Lindeman) 之遺傳變異

曾麗月<sup>1</sup>、張念台<sup>1</sup>、曾美容<sup>2</sup>、葉文斌<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 國立屏東科技大學植物醫學系 91201 屏東縣內埔鄉學府路 1 號

<sup>2</sup> 國立中興大學昆蟲學系 40227 台中市國光路 250 號

## 摘要

蔥薊馬 (*Thrips tabaci* Lindeman) 為世界性分佈害蟲，其體色多態且翅上毛列變異大，為進口農作上最常見的害蟲，已有學者認為蔥薊馬為複合種群含有 3 個形態種。本實驗收集與台灣貿易往來較密切的環太平洋地區國家的蔥薊馬，複製粒線體 COI 及核糖體 ITS2 序列，進行遺傳變異分析。環太平洋地區各國蔥薊馬 COI 序列以紐西蘭的族群變異最大，差異都在 2% 以上，其次為日本的族群，其餘各國序列變異大小相近；網狀儉約分析則顯示有兩個主要的 COI 基因單型，其一是美洲地區的美國、秘魯及墨西哥，另一則是西太平洋的中國、台灣及日本。若將環太平洋地區與基因庫上蔥薊馬的 COI 一起分析，則發現歐洲地區的個體變異最大，而親緣分析則顯示全世界的蔥薊馬有 3 個截然不同的演化支系，支系 A 的成員主要來自歐洲；支系 B 內有全世界各地的蔥薊馬，太平洋周邊國家，除日本及紐西蘭外，幾乎都屬支系 B；支系 C 的成員則全部來自歐洲。環太平洋地區蔥薊馬 ITS2 序列與英國地區序列差異高達 16%，而環太平洋地區蔥薊馬 ITS2 序列變異則有限，最大的變異族群出現在泰國，其與各國族群變異多在 1.5% 以上；ITS2 序列儉約網狀基因單型則顯示英國、紐西蘭、澳大利亞及日本間有較高的相關性。本研究分析 COI 及 ITS 序列顯示全世界的蔥薊馬有很高的分化，而台灣的族群僅屬於其中一支系，需嚴防其它支系的蔥薊馬個體進入台灣，以免產生雜交改變原有蔥薊馬族群之基因組成，避免更大危害。

**關鍵詞：**蔥薊馬、核糖體第二間區、細胞色素氧化酶次單位元一、遺傳變異

\*論文聯繫人

Corresponding email: wbyeh@nchu.edu.tw

蔥薊馬之遺傳變異 219

## 前 言

蔥薊馬分類地位為繆翅目錐尾亞目薊馬科薊馬屬之物種，在室溫的環境下約 4 週便可完成一個世代 (Lu and Lee, 1987)，為世界重要性危害薊馬。目前蔥薊馬多以成蟲外部形態做為鑑定主要依據，雌蟲體長約 1.1~1.25 mm，體色淡黃色至深褐色；雄蟲體型較小，約 1.0 mm，淡黃色，特徵似雌蟲，唯腹部第 III~V 節具橫向寬扁之腺室 (Mound, 1976)。此薊馬具有性生殖 (arrhenotoky) 的特性或僅見孤雌生殖 (thelytoky)，且 Toda and Murai (2007) 發現上述兩種生殖特性的蔥薊馬族群已有生殖隔離；目前蔥薊馬在台灣僅發現行孤雌生殖，尚未發現有兩性生殖個體的雄蟲存在 (Lu and Lee, 1987)。

薊馬是危害農作的重要害蟲，其鑑定也因體型微小、體色變異大、特徵不一定明確而有所困難。近年 DNA 在各類昆蟲的親緣分析已很普遍，也有不少學者應用分子特徵於薊馬之親緣分析及鑑定。在高階親緣分析方面，Mound and Morris (2007) 及 Morris and Mound (2003) 對各科間親緣做了部份的探討；在屬下位階的親緣分析，有 Hoddle *et al.* (2008) 及 Glover *et al.* (2010) 分別對跳薊馬屬 (*Scirtothrips*) 及薊馬屬 (*Thrips*) 各 18 種及 4 種做分析；Inoue and Sakurai (2007) 針對傳播萎凋病毒 (Tospovirus) 的特性，研究傳毒薊馬的親緣關係；Morris *et al.* (2002) 及 McLeish *et al.* (2007) 研究造瘿薊馬 (*Acacia*) 的演化特性。相較於上述相關薊馬物種的分子系統研究，蔥薊馬則算是研究較多的對象；Lin *et al.* (2003) 應用限制酶切割及粒線體 16S rDNA 序列分析蔥薊馬的變異；Brunner *et al.* (2004)、Frey and Frey (2004)、Asokan *et al.* (2007)、Toda and

Murai (2007) 及 Glover *et al.* (2010) 則應用粒線體 COI 序列分析蔥薊馬在世界各地、各類寄主或傳播病毒能力間的關係。

Brunner *et al.* (2004) 針對煙草 (tobacco) 及韭蔥 (leek) 等不同寄主採集蔥薊馬，進行粒線體 COI 基因序列差異及親緣關係分析，明顯的可分為 3 個差異極大的演化支系，並推論早在 2,800 萬年前就已分化為取食韭蔥及煙草的兩個族群。因此，他們認定蔥薊馬是一群外形相似的不同薊馬所組成的複合群。Frey and Frey (2004) 進一步證實單一蔥薊馬個體內有異質單型 (heteroplasmy) 的遺傳變異存在。而 Toda and Murai (2007) 之研究結果也支持 Brunner *et al.* (2004) 的研究結果，且各支系的生殖特性及傳毒能力也差異甚大，已具有生殖隔離的現象。

蔥薊馬在台灣每年的進口農作產品上是檢出最多的害蟲，數量達上萬筆，成蟲形態上已無法區辨該個體隸屬於何種演化支系，更遑論幼蟲的鑑定分析，其與臺灣地區的族群差異為何，也無法知悉。若遺傳組成差異甚大的外來族群或演化支系進入國內，可能會造成族群間的基因交流，增加防治上的不確定性。因此，有需要建立台灣地區蔥薊馬族群與進口農作上的蔥薊馬族群的分子遺傳資料，分析其與世界各國蔥薊馬的族群分化程度，掌握其屬於何種演化支系；若是分屬不同的演化支系，則有需要考量防止此類特性完全不同的蔥薊馬進入台灣。本研究除應用 COI DNA 片段外，並分析了另一個變異速率較快的 ITS2 核 DNA，兩基因共同探討世界各國蔥薊馬族群的遺傳變異及基因交流狀況。台灣地區蔥薊馬樣本外，並分析進口較頻繁幾個國家的蔥薊馬變異，掌握這些國家蔥薊馬族群的變異。

表一 本研究使用之環太平洋地區蔥薊馬標本相關資料及定序的基因長度

Table 1. Country, abbreviation, host plant, and amplicon size of *Thrips tabaci* individuals from the Pacific Rim

	Country	Sample	Host plant	COI	ITS
1	United States	U-19-2	Strawberry	695	566
2	United States	U-20	Pea shoot	711	570
3	United States	U-21-2	Asparagus	695	566
4	Australia	Qua057-2	Asparagus	701	601
5	Australia	Qua060-1	Asparagus	701	542
6	Australia	Qua069-1	Asparagus	701	619
7	China	GZ	Asparagus	711	570
8	China	GZ-1	Asparagus	695	566
9	Hawaii	HA	Green onion	711	570
10	Hawaii	HA-1	Green onion	695	566
11	Hawaii	HA-2	Green onion	695	566
12	Mexico	M-1	Asparagus	711	570
13	Mexico	M-3	Asparagus	711	570
14	Mexico	M-8	Asparagus	701	579
15	New Zealand	Qua051-2	Eryngiumy	701	608
16	New Zealand	Qua051-3	Eryngiumy	701	572
17	New Zealand	Qua081-1	Endive(Frisee)	701	617
18	New Zealand	Qua081-2	Asparagus	701	617
19	Peru	P-2	Asparagus	711	570
20	Peru	P-2-1	Asparagus	695	566
21	Peru	P-2-2	Asparagus	695	566
22	Taiwan	BH	Green onion	711	570
23	Taiwan	BH-1	Green onion	695	566
24	Taiwan	PH	Green onion	711	570
25	Taiwan	JE-1	Green onion	695	566
26	Taiwan	NM	Green onion	711	570
27	Thailand	T-6-1	Asparagus	695	566
28	Thailand	T-6	Asparagus	711	579
29	Thailand	T-9	Asparagus	711	579
30	Thailand	T-10	Asparagus	711	579

## 材料與方法

### 一、蔥薊馬樣本及 DNA 序列之收集

台灣地區蔥薊馬標本分別採自嘉義縣新港鄉、台南縣白河鎮、高雄縣內門鄉及澎湖縣七美鄉等地；與台灣貿易較頻繁環太平洋各國的蔥薊馬標本則在防檢局的協助與提供下，共有來自東亞、美洲、澳大利亞及紐西蘭等地之標本。各標本依採集地區、寄主作物及分析基

因大小列於表一。蒐集到的薊馬標本置於 70% 酒精中，存於 -20°C 冷凍櫃中備用；另自基因庫上蒐尋蔥薊馬相關序列分析。

### 二、DNA 萃取及標本製作

將蔥薊馬單隻成蟲或幼蟲自酒精中取出，待酒精揮發後，放入 1.5 ml 離心管中，利用 Protec 公司所生產的 DNA 純化試劑 EPICENTRE® Biotechnologies Kit 的溶液

表二 蔥薊馬 ITS2 區段及 COI 基因之上下游引子序列

Table 2. Amplification primers of the ITS2 region and the COI gene of *Thrips tabaci*

Amplicon	Name	Sequences	+/-
ITS2	P1-2	5'GTGGATCCCTYGGCTTGTG3'	+
	28Z	5'AGACTCCTTGGTCCGTGTTTC 3'	-
	28Sj2	5'GTTAGTTTCTTTTCCTC3'	-
COI	4U	5'CWAATCAYAAAGATATTGG3'	+
	2D	5'GGRTGWCCAAAGAATCAAAA3'	-

100 µl 加入放置蟲體的離心管中，震盪 15~20 秒；試管放入乾熱器內溫度調至 65°C，轉速 60 rpm 反應 6~10 分鐘，之後震盪 15 秒；置入 98°C 的乾熱器，轉速 60 rpm 反應 2~5 分鐘，之後保存於 -20°C 冷凍櫃中備用。

蔥薊馬蟲體自萃取出之 DNA 溶液中撈出，用 Hoyer's medium 製作為存證標本，於載玻片標示地點、日期、寄主植物、標本編號，並利用光學顯微鏡觀察其形態特徵。

### 三、PCR 增幅目標 DNA

以聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 複製核糖體轉錄區間 ITS2 及粒線體 DNA 細胞色素氧化酶次單元一 (cytochrome oxidase I, COI)。取 0.2 ml 微量離心管，加入 4 µl 的 DNA 萃取液，0.4 µl *Taq* DNA polymerase (5U/ µl)，10X *Taq* 緩衝液 (含 0.2 mM Mg<sup>2+</sup>) 5 µl，25 mM dNTP 混合液 0.4 µl 及 10 µM 之相對引子 1 µl (表二)，最後加入二次去離子水，使總體積為 50 µl，將溶液混合均勻後進行 PCR 反應。

引子 P1-2 及 28Sj2 增幅 ITS2 rDNA 區段，反應條件為變性 95°C 2 分鐘；變性 95°C 40 秒、黏合 45°C 40 秒、延長 72°C 30 秒 30 個循環，之後進行最終延長 72°C 10 分鐘，終止溫度為 4°C，儲存於 -20°C 冷凍櫃中備用。

引子 COI 4U 及 COI 2D 增幅 COI 區段，反應條件為變性 95°C 2 分鐘；變性 95°C 50 秒、黏合 45°C 50 秒、延長 72°C 50 秒 40 個循環，之後進行最終延長 72°C 10 分鐘，終止溫度為 4°C，儲存於 -20°C 冷凍櫃中備用。

### 四、電泳分析及 PCR 產物純化定序

將 PCR 增幅產物以 1% 的瓊脂膠進行電泳分析，確定複製產物的濃度及大小是否正確。依據反應試劑組 VIOGENE Gel-M extraction Kit 試劑，進行 PCR 產物回收，保存於 -20°C 冷凍櫃中。並進一步委託生物科技公司，經自動定序儀分析，而得到 DNA 序列。

### 五、DNA 序列比對分析

利用 BioEdit 軟體分析 (Hall, 1999)，進行 DNA 序列整理，並將序列送上 NCBI 網站，(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 利用 Blast 的功能將序列和基因庫中其他蔥薊馬序列比對，確保其正確性。用 MEGA4 (Tamura *et al.*, 2007) 分析軟體，進行核酸序列差異探討及親緣分析，進而計算各國家蔥薊馬族群內和族群間的差異大小。選用百分比差異推演其變異，並選用類聚方法求得親緣關係。另利用 DNAsp 軟體分析各國家族群間的遺傳分化狀況 (Rozas *et al.*, 2003)。基因單

表三 環太平洋地區各國蔥薊馬族群 DNA 之變異，左下方及右上方分別為 COI 及 ITS 的平均變異，斜線框內分別為 COI 及 ITS 族群內的變異，粗體字為變異數值較大者

Table 3. Average sequences divergences of *Thrips tabaci* among the Pacific Rim populations. Sequence divergences of COI and ITS2 are presented below and above the diagonal, respectively. Two values within the diagonal blocks are divergences of COI and ITS2 within each population. Values larger than that of average are in bold

COI \ ITS2	Taiwan	Thailand	China	Japan	Hawaii	USA	Mexico	Peru	New ZL*	Australia
Taiwan	0.1; 0.7	<b>1.3</b>	0.5	0.5	0.8	0.9	1.1	1.1	0.8	0.8
Thailand	0.8	0.5; <b>1.4</b>	<b>1.1</b>	<b>0.9</b>	<b>1.4</b>	<b>1.5</b>	<b>1.9</b>	<b>1.5</b>	<b>2.2</b>	<b>2.2</b>
China	0.1	0.8	0; 0	0.6	0.7	0.6	0.9	0.8	0.8	0.8
Japan	1.1	1.4	1.1	1.6; --	0.6	1.0	0.8	1.1	0.2	0.1
Hawaii	0.2	1.0	0.2	1.2	0.4; 0.9	1.1	1.1	1.2	0.8	0.8
USA	0.8	0.3	0.8	1.3	1.0	0; 1.1	1.4	1.2	1.2	1.3
Mexico	1.2	0.9	1.3	1.8	1.5	0.6	1.3; 0.8	1.3	1.1	1.1
Peru	0.8	0.4	0.8	1.3	1.0	0.1	0.8	0.3; 1.1	1.3	1.3
New ZL	<b>2.0</b>	<b>2.3</b>	<b>2.0</b>	<b>2.2</b>	<b>2.2</b>	<b>2.1</b>	<b>2.4</b>	<b>2.1</b>	<b>2.8; 0.6</b>	0.5
Australia	0.5	0.8	0.5	1.3	0.7	0.6	1.2	0.6	<b>2.2</b>	0.9; 0.5

\* New Zealand

型間的變化關係，用最儉約網狀圖來表達，以軟體 TCS 分析 (Clement *et al.*, 2000)。

## 結 果

### 一、環太平洋地區蔥薊馬族群 COI 變異分析

環太平洋地區各國蔥薊馬 COI 序列定序片段約有 690 bp，將基因庫上相關序列 13 條下載一起分析發現，各地區間的序列變異以紐西蘭的蔥薊馬變異最大，與各國間的薊馬族群差異都在 2% 以上，其國內的變異更高達 2.8% (表三)；日本地區的蔥薊馬為變異第二大的族群，其與各國蔥薊馬族群的變異都在 1% 以上，其國內平均變異也達 1.6%；台灣、中國、泰國、夏威夷、美國、墨西哥、秘魯及澳大利亞之間的序列變異有大有小，從 0.1% 到 1.8% 之間。親緣關係分析顯示出，環太平洋地區的蔥薊馬有 A 及 B 兩大支系，日本及紐西蘭的個體組成其中之 A 支系，與其他國家的個體截然不同 (圖一)；在較大的 B 支系當中，分出幾個小支系，但其間的親緣不易判

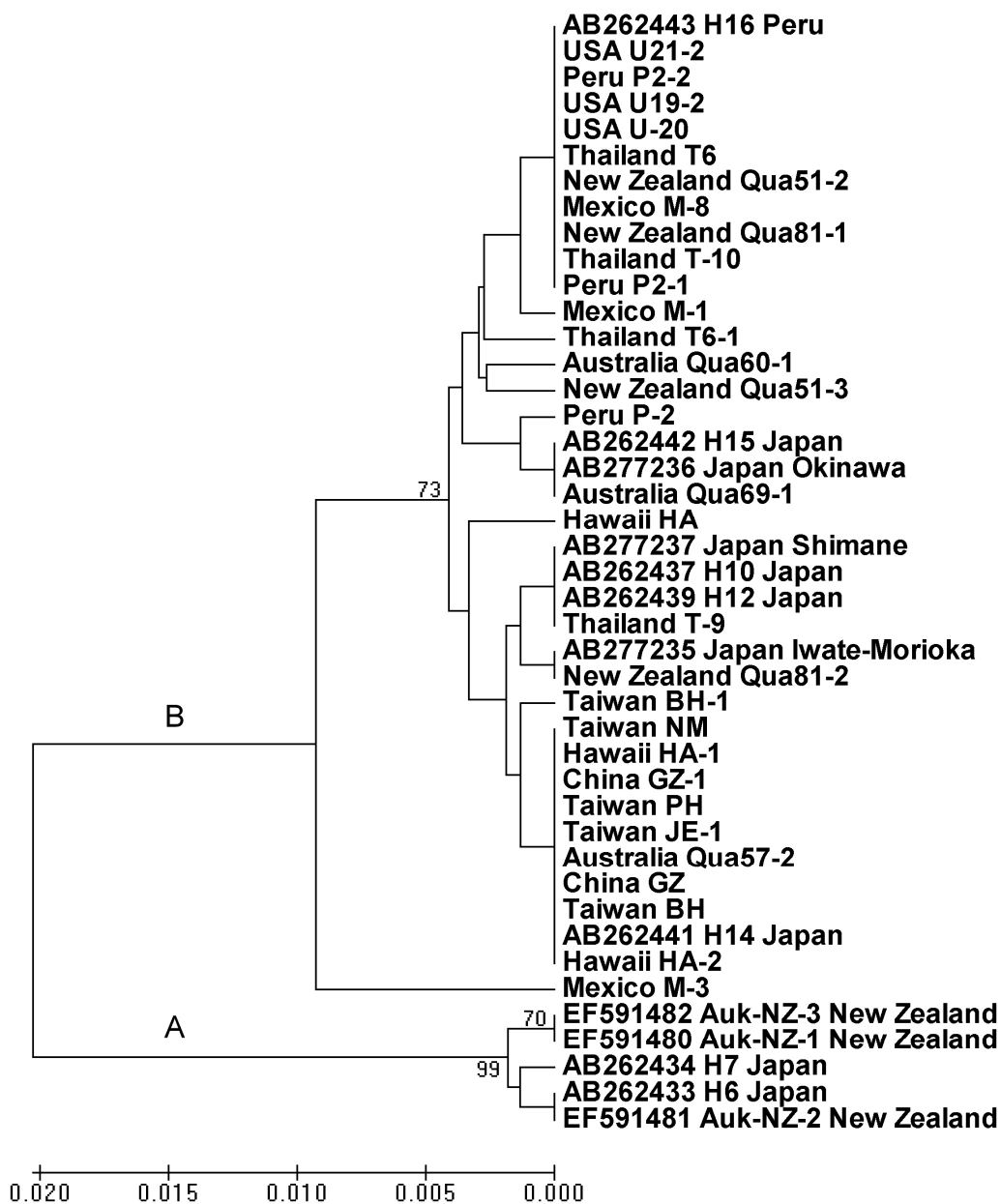
定，僅可發現墨西哥的蔥薊馬有一個體變異較大。

### 二、世界各地蔥薊馬族群 COI 變異分析

將基因庫上已公開與本研究定序的蔥薊馬 COI 序列一起分析發現，歐洲及西亞的蔥薊馬族群有著最大的變異 (表四)，與各洲間的差異都在 2.6% 以上，歐洲各地的變異也達 3.4%，顯示歐洲的蔥薊馬族群是全世界多樣性最高的地區，紐澳地區與其他各洲間的變異也將近 2%，其餘東亞、非洲、美洲間的變異則較小。

各地區的遺傳分化指數顯示，西亞的蔥薊馬族群與世界各地的分化現象最高，可達 0.622 (表四)，顯示此地區蔥薊馬族群與其他各區之間交流擴散並非全面性的；族群間基因交流的侷限性也可在非洲族群發現，分化指數多大於 0.236；較特別的是紐澳地區，其與歐洲及東亞之間的族群幾乎是沒有分化，顯示族群間的往來非常暢通。

親緣分析顯示出 3 個截然不同的演化支



圖一 環太平洋地區蔥薊馬 COI mtDNA 區段序列，以 p-distance 運算模式，再經 UPGMA 群聚方法所推導之親緣樹型圖分出 A 及 B 兩支系。拔靴值大於 60% 列於樹支旁，比例尺為相對的變異大小。基因庫下載的序列標有基因代號、個體代號及國家地區等訊息。

Fig. 1. Phylogenetic tree inferred from the partial COI mtDNA sequences of *Thrips tabaci* from the Pacific Rim by the UPGMA clustering method using proportion divergence. Two divergent lineages were found, and bootstrap values of more than 60% are shown beneath the branches. The scale is the relative proportion divergence. The sequences downloaded from the genbank are labeled with information regarding accession number, isolate, and country.

表四 各大洲蔥薊馬族群的 COI 序列變異，右上方及左下方分別為分化指數及平均變異，斜線框內為族群內的變異，粗體字為變異數值較大者；各洲所含相關國家名稱參考表一

Table 4. COI sequence divergences of *Thrips tabaci* populations distributed in different biota area. Differentiation index (*Fst*) and average proportion distance are presented above and below diagonal, respectively. Values within diagonal block are divergent distance within each population. Values larger than the average are shown in bold. The sampling country for each biota can be checked in Table 1

Area*	Europe	W Asia	E Asia	Africa	America	NZ-AU
Europe	<b>3.4</b>	0.161	0.139	0.336	0.265	0.007
W Asia	<b>3.5</b>	<b>2.7</b>	<b>0.449</b>	<b>0.622</b>	<b>0.547</b>	0.209
E Asia	<b>2.6</b>	<b>3.1</b>	1.1	0.278	0.117	0.029
Africa	<b>2.7</b>	<b>3.3</b>	0.9	0.2	---	0.236
America	<b>2.8</b>	<b>3.3</b>	1.0	0.5	0.7	0.132
NZ-AU	<b>2.9</b>	<b>3.0</b>	1.8	1.7	1.8	2.4

\* W Asia: western Asia; E Asia: eastern Asia; NZ-AU: New Zealand and Australia

系（圖二），支系 A 的成員主要來自歐洲，部分來自以色列、日本及紐西蘭；支系 B 內有全世界各地的蔥薊馬，太平洋周邊國家，除日本及紐西蘭外，幾乎都屬支系 B；支系 C 的成員則全部來自歐洲。這三大支系各自有一些次要的演化支系分化出來，尤其支系 B，其特化出的小支系最多。

### 三、環太平洋地區蔥薊馬 ITS 序列變異分析

環太平洋地區蔥薊馬 ITS 區段序列變異與英國地區序列差異高達 16%，英國地區個體間的序列差異也很大；相較之下，環太平洋地區蔥薊馬的變異則有限，與英國為截然不同的支系，最大的變異族群出現在泰國，其與各國族群的變異多在 1.5% 以上（表三），其餘各國間的變異多座落在 0.5% 到 1.2% 之間。

蔥薊馬 ITS 序列分析的報告尚不多，將下載的 11 條序列一起分析後發現，英國的族群組成最複雜，除變異最大的支系外（圖三 A），其他個體均與環太平洋地區國家的族群分佈在一起（圖三 B），環太平洋地區各國族群雖有幾個小支系出現，但其親緣關係多不是很

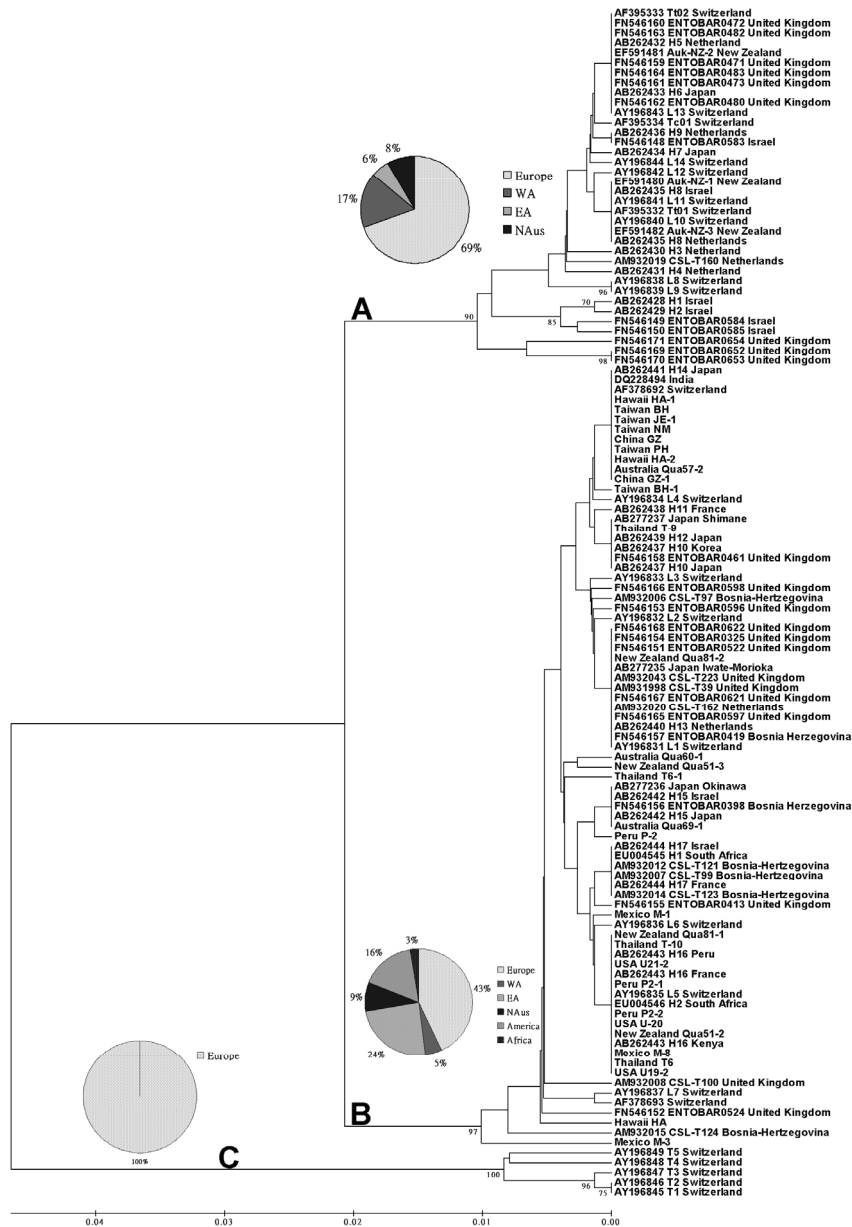
明確，但可知泰國有一變異較大之個體存在。

### 四、環太平洋地區各國蔥薊馬族群 COI 及 ITS 序列變異的一致性

COI 序列的變異顯示，紐西蘭族群有著最大的變異，而 ITS 區段的序列則顯示變異最大族群在泰國。COI 序列中，夏威夷、台灣及中國族群間的變異最小（0.1%~0.2%），但其在 ITS 序列差異並不小；而 ITS 序列中，日本、紐西蘭及澳大利亞差異最小（0.1%~0.5%），但其在 COI 序列中差異並不小。以上顯示出母系遺傳特性的 COI 基因及雙性遺傳特性的 ITS 序列未有一致性的演化特性。

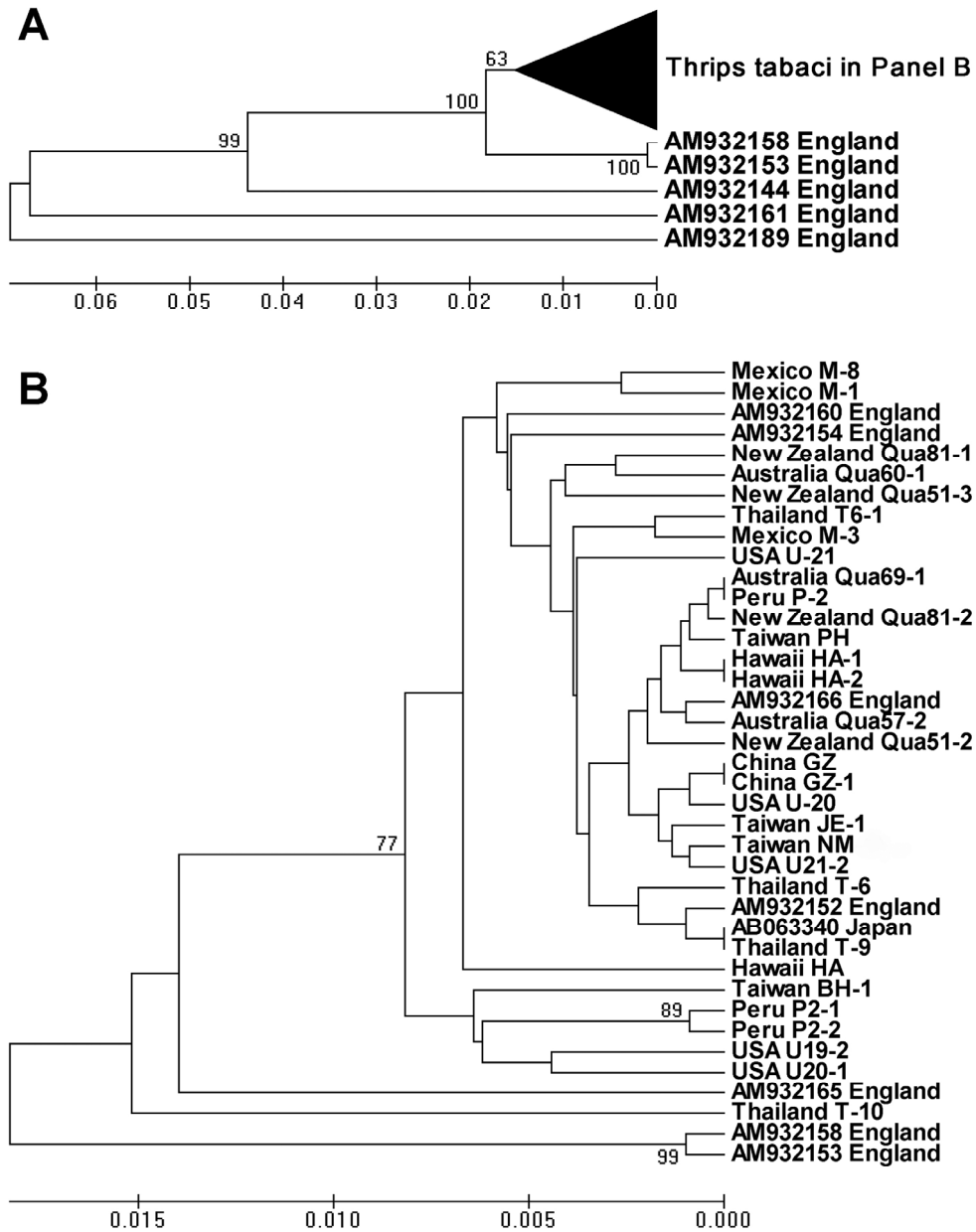
演化親緣分析多數也顯示出非一致性的特性，但部分的樣本分析，則有一致性存在，像美國 U21-2 及 U20、秘魯 P2-1 及 P2-2、中國的 GZ 及 GZ-1、夏威夷的 HA-1 及 HA-2、台灣的 MN-1 及 JE-1，這些樣本在 COI 及 ITS 序列變異都很小，演化關係也很近。各國 ITS 及 COI 兩基因共同顯示，這些國家間的蔥薊馬有不低的基因交流，但其各國內仍有其局部分佈的獨特性。





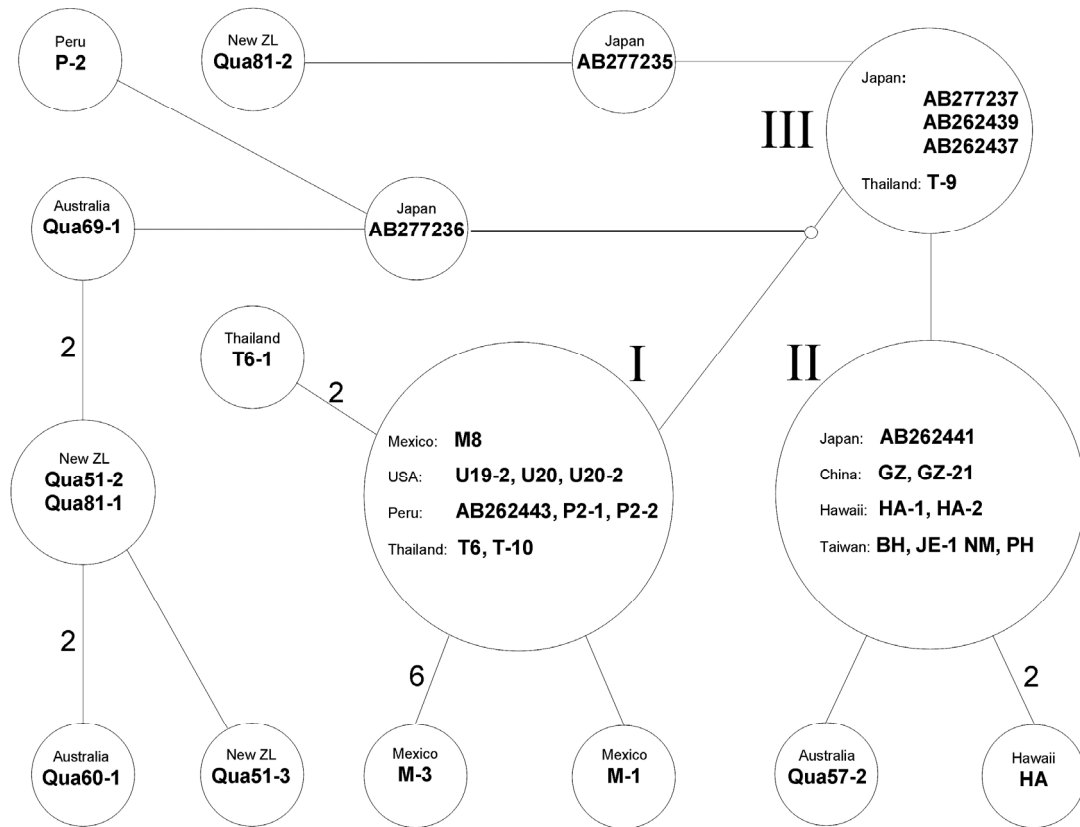
圖二 世界各地薊薊馬 COI mtDNA 區段序列，以 p-distance 運算模式，再經 UPGMA 群聚方法所推導之親緣樹型圖分出 A、B 及 C 三大支系。拔靴值大於 60% 列於樹支旁；比例尺為相對的變異大小；圓餅圖為各地薊薊馬數量相對比例，縮寫代號參考表四。基因庫下載的序列標有基因代號、個體代號及國家地區等訊息。

Fig. 2. Phylogenetic tree inferred from the partial COI mtDNA sequences of *Thrips tabaci* from the world by the UPGMA clustering method using proportion divergence. Three divergent lineages of A, B, and C were found. Bootstrap values of more than 60% are shown beneath the branches. The scale is the relative proportion divergence. Proportion circle present the relative numbers of *T. tabaci* individuals in the world, and the abbreviated areas are referred to in Table 4. The sequences downloaded from the genbank are labeled with information regarding accession number, isolate, and country.



圖三 世界各地蔥薊馬 ITS2 序列，以 p-distance 運算模式，再經 UPGMA 群聚方法所推導之親緣關係。A：變異大的演化支系均來自英國；B：環太平洋地區蔥薊馬均落於此支系。拔靴值大於 60% 列於樹支旁，比例尺為相對的變異大小。基因庫下載的序列標有基因代號及國家地區等訊息。

Fig. 3. The phylogenetic tree inferred from intergenic spacer 2 (ITS2) sequences of *Thrips tabaci* by UPGMA clustering method using proportion divergence. A: Divergent lineages are all from the UK; B: Sequences from the Pacific Rim are all within this lineage. Bootstrap values of more than 60% are shown beneath the branches, and the scale is the relative proportion divergence. The sequences downloaded from the genbank are labeled with information regarding the accession number and the country.



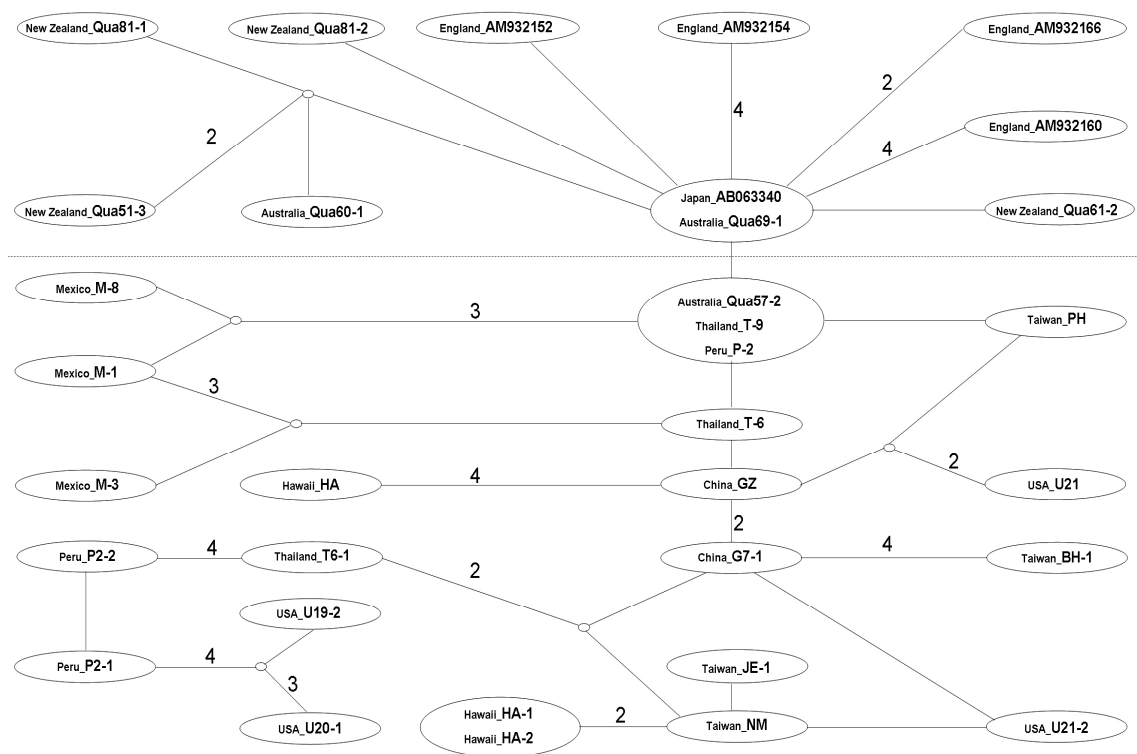
圖四 蔥薊馬 COI DNA 基因單型之簡約網狀圖，共可分為 I、II 及 III 3 大類型；相同的基因單型以同一圓圈表示，圓圈越大表示相對的個體數越多；各單型間以直線連結，單型間的序列差異大於 1 個核苷酸用數值列於直線旁，最小的圓圈圈為假設的基因單型。基因庫下載的序列標有基因代號。

Fig. 4. Three groups (i.e., I, II, and III) of COI haplotypes in *Thrips tabaci* can be found in statistical parsimony analysis. The number of haplotypes is shown with proportionally sized circles. One nucleotide change is shown between haplotypes except for the number labeled beneath the lines and the smallest circle which is the hypothesized haplotype. The sequences downloaded from the genbank are labeled with the accession number.

### 五、統計儉約網狀圖 (Statistical parsimony)

COI 序列基因單型網狀儉約圖可知，有兩個基因單型數量較多；其中一個是以美洲地區的美國、秘魯及墨西哥為主有 9 個體 (圖四 I)，從此單型衍生出 3 個墨西哥及泰國的基因單型；另一數量較多的基因單型則是以西太平洋的中國、台灣及日本為主有 9 個體 (圖四 II)，此基因單型與夏威夷的個體有高相

似度；其餘的基因單型與日本的單型有較大的關連性 (圖四 III)，像泰國的 T9、紐西蘭的 Qua81-2 及秘魯的 P-2，更有一分支衍生出澳大利亞及紐西蘭 4 個基因單型 5 個體。ITS 序列儉約網狀基因單型顯示英國、紐西蘭、澳大利亞及日本間有較高的相關性 (圖五 I)，而日本及紐西蘭、澳大利亞除外的環太平洋地區各國之間的基因單型則彼此連結，僅祕



圖五 蔥薊馬 ITS2 DNA 基因單型之簡約網狀圖，環太平洋地區的單型多連結位虛線下方。相同的基因單型以同一橢圓表示，橢圓形越大表示相對的個體數越多；各單型間以直線連結，單型間的序列差異大於 1 個核苷酸用數值列於直線旁，最小的圓圈為假設的基因單型。基因庫下載的序列標有基因代號。

Fig. 5. Haplotypes of ITS2 sequences in *Thrips tabaci* from the Pacific Rim are mostly shown below the dotted line in the statistical parsimony analysis. The number of haplotypes is shown with proportionally sized ellipses. One nucleotide change is shown between haplotypes except for the number labeled beneath the lines and the smallest circle which is the hypothesized haplotype. The sequences downloaded from the genbank are labeled with the accession number.

魯及美國間有較高的關連性 (圖五)。

## 討論

自 1998 年起已有許多學者應用 DNA 多型性片段於薊馬分子鑑定 (Kraus *et al.*, 1998; Moritz *et al.*, 2000; Bruner *et al.*, 2002; Lin *et al.*, 2003; Liu, 2004; Rugman-Jones *et al.*, 2006; Farris *et al.*, 2010)。另外，為加速鑑定的功能，有些學者進一步應用

專一性引子複製特定片段，進行薊馬物種的鑑定 (Liu, 2004; Asokan *et al.*, 2007; Walsh *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2010)。最常應用在薊馬害蟲的族群變異分析及親緣關係則是 DNA 序列，其中 COI 基因與 ITS 序列除用於種內族群變異分析外，也常應用在種間及屬間親緣關係的探討。

蔥薊馬 COI 基因的序列變異分析顯示出高度的歧異現象，Frey and Frey (2004) 應用瑞士地區的蔥薊馬，分析得知 COI 序列有

個體內不均質的狀況，與基因庫上的蔥薊馬序列差異達 2.4%。Bruner *et al.* (2004) 分析瑞士及希臘地區各寄主作物上的蔥薊馬族群的 COI 序列，發現有三個截然不同的支系，其中兩支系與蔥韭有關，另一支系與菸草有關；其在 4,100 萬年到 2,800 萬年前即已分化開來，變異大小介於 4% 到 11% 之間，分化指數 ( $F_{st}$ ) 也大於 0.824；因此他們認為蔥薊馬應是一群外型相似的不同薊馬所組成的複合種群或亞種群。Asokan *et al.* (2007) 發現印度的蔥薊馬族群的 COI 序列與歐洲地區的族群差異高達 11%，並認為其傳毒能力可能不同。Toda and Murai (2007) 分析 7 個國家蔥薊馬族群的 COI 序列發現有三個截然不同的演化支系存在，並證明專產雌孤雌生殖的蔥薊馬為近代的演化結果，而雙性孤雌生殖的蔥薊馬則組成另兩支系。Glover *et al.* (2010) 分析英國、玻里尼西亞及紐西蘭蔥薊馬的 COI 序列，則未有特別的分化現象。

於 ITS 區段方面，Liu (2004) 應用 ITS 序列分析數種花薊馬屬 (*Frankliniella*) 成員遺傳變異，發現各種間的序列相似度多大於 64%，但與其他屬的薊馬則差異甚大，相似度均不到 40%。Rugman-Jones *et al.* (2006) 應用 ITS 序列分析 10 餘種跳薊馬屬物種，差異也非常高。Glover *et al.* (2010) 用 ITS2 序列分析 4 薊馬屬物種及西方花薊馬的序列變異，發現種內變異多達 10%，在蔥薊馬及西方花薊馬內甚至高達 20% 變異，種間變異更高，介於 25% 到 80% 之間。

近年來，COI DNA 生命條碼用於物種的判定已受到肯定，但仍多數僅及於粒線體的 COI 基因序列，物種若處於分化狀況或是有雜交的現象，則母系遺傳特性的 COI 基因，會因基因滲入方向的關係，造成物種間或族群間分化程度的誤判；當此狀況，最好的方式即

加入雙性遺傳特性的核基因來探討分化問題。在薊馬的研究當中，多數學者均是用 COI 基因來探討薊馬種間或各地族群的變異，僅少數用 ITS 區段。Bruner *et al.* (2004) 及 Toda and Murai (2007) 用 COI 基因研究發現全世界蔥薊馬分成 A、B、C 三支系，且 Toda and Murai (2007) 指出 A 及 C 支系的雙性生殖族群已與單性生殖的 B 支系，分別為不同種；A-C 兩支系與 B 支系有無基因交流，用 ITS 基因共同分析即可知曉，然上述學者並未研究 ITS 基因。雖然有學者應用 ITS 序列資料分析數種花薊馬屬 (*Frankliniella*) (Liu, 2004) 及跳薊馬屬 (*Scirtothrips*) (Rugman-Jones *et al.*, 2006) 的變異，也發現種內有分群現象，但也未結合 COI 區段的資料，因此無法進一步推論其間有無基因交流的可能性。Glover *et al.* (2010) 同時用 COI 序列及 ITS 序列分析 5 種薊馬，其中即含 10 個蔥薊馬個體，但他們並未詳細分析蔥薊馬 ITS 及 COI 之間共同變異的特性，僅於圖中顯示 COI 變異可達 4%，而 ITS 變異可達 20%。

本研究探討環太平洋地區各國蔥薊馬族群的變異，各國家應用 3~4 個蔥薊馬個體，大致看出了此一地區蔥薊馬的變異，無論是 ITS 區段或粒線體 COI 基因均顯示，環太平洋地區的蔥薊馬組成與歐洲地區差異很大。雖可知環太平洋地區各國蔥薊馬彼此有基因交流，實際交流擴散狀況則尚無法掌握，僅 ITS 序列看出泰國地區的蔥薊馬族群，有較大的變異；而 COI 序列則顯示紐西蘭的族群有特別的組成。若要進一步釐清環太平洋各國蔥薊馬族群間的交流程度，尚需取得更多的樣本定序分析。

台灣自從加入世界貿易組織後，農產品貿易逐年增加；因此，外來種入侵台灣的機率也

就提高了許多，致使台灣面對外來有害生物的極大威脅。蔥薊馬這類有害生物，夾雜在農產品之中，一旦不注意就可能造成入侵及危害。除此之外，蔥薊馬這種多態型昆蟲，其 DNA 變異顯示有 3 大支系，而台灣的族群屬於其中之 B 支系，唯有應用 DNA 資料才足以區辨。

以往萃取蔥薊馬蟲體 DNA 的所需時間大約 1~2 天，且常會破壞蟲體標本，而在本研究中所提出將薊馬浸泡於 DNA 萃取溶液中的方法，只需 30 分鐘便能有效萃取蟲體 DNA，解決了存證標本的保存問題。另外，本研究發現環太平洋地區蔥薊馬基因交流頻繁，但此一地區的蔥薊馬族群除日本及紐西蘭部分個體外，都屬 B 支系，此訊息亦提供重要之檢疫訊息，需嚴防 A 及 C 支系的蔥薊馬個體進入台灣，以免引起更大危害，況且 A 及 C 支系的傳毒能力甚高，而 B 支系則否 (Chatzivassiliou *et al.*, 2002)；COI 及 ITS 兩 DNA 片段也都顯示，歐洲的蔥薊馬族群有著最大的變異組成，更是我們防範的重要地區。

## 誌 謝

感謝行政院農業委員會及國家科學委員會提供研究計畫 (96 農科-14.3.1-檢-B2-7; 97 農科-14-3.1-檢-B2; 97 農科-14.2.3-檢-B5; NSC 97-2317-B-005-008-); NSC 98-2324-B-005-016-CC2) 經費之支持; 另感謝行政院農業委員會動植物防疫檢疫局於標本的協助收集。

## 引用文獻

Asokan, R., N. K. K. Kumar, V. Kumar, and

- H. R. Ranganath. 2007. Molecular differences in the cytochrome oxidase I (mtCOI) gene and development of a species-specific marker for onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman, and melon thrips, *T. palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae), vectors of tospoviruses (Bunyaviridae). *Bull. Entomol. Res.* 97: 461-470.
- Brunner, P. C., C. Fleming, and J. E. Frey. 2002. A molecular identification key for economically important thrips species (Thysanoptera: Thripidae) using direct sequencing and a PCR-RFLP-based approach. *Agri. For. Entomol.* 4: 127-136.
- Brunner, P. C., E. K. Chatzivassiliou, N. I. Katis, and J. E. Frey. 2004. Host-associated genetic differentiation in *Thrips tabaci* (Insecta: Thysanoptera), as determined from mtDNA sequence data. *Heredity* 93: 364-370.
- Chatzivassiliou, E. K., D. Peters, and N. I. Katis. 2002. The efficiency by which *Thrips tabaci* populations transmit *Tomato spotted wilt virus* depends on their host preference and reproductive strategy. *Phytopathology* 92: 603-609.
- Clement, M., D. Posada, and K. A. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.* 9: 1657-1660.
- Farris, R. E., R. Ruiz-Arce, M. Ciomperlik, J. D. Vasquez, and R. DeLeón. 2010. Development of a ribosomal DNA ITS2 marker for the identification of the

- thrips, *Scirtothrips dorsalis*. J. Insect Sci. 10: 26.
- Frey, J. E., and B. Frey.** 2004. Origin of intra-individual variation in PCR-amplified mitochondrial cytochrome oxidase I of *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae): mitochondrial heteroplasmy or nuclear integration? Hereditas 140: 92-98.
- Glover, H., D. W. Collins, K. Walsh, and N. Boonham.** 2010. Assessment of loci for DNA barcoding in the genus *Thrips* (Thysanoptera: Thripidae). Mol. Ecol. Res. 10: 51-59.
- Hall, T. A.** 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequences alignment, and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acid Symp. Ser. 41: 95-98.
- Hoddle, M. S., J. M. Heraty, P. F. Rugman-Jones, L. A. Mound, and R. Stouthamer.** 2008. Relationships among species of *Scirtothrips* (Thysanoptera: Thripidae, Thripinae) using molecular and morphological data. Ann. Entomol. Soc. Am. 101: 491-500.
- Huang, K. S., E. Lee, Y. Yeh, G. S. Shen, E. Mei, and C. M. Chang.** 2010. Taqman real-time quantitative PCR for identification of western flower thrip (*Frankliniella occidentalis*) for plant quarantine. Biol. Lett. 6: 555-557.
- Inoue, T., and T. Sakurai.** 2007. The phylogeny of *Thrips* (Thysanoptera: Thripidae) based on partial sequences of cytochrome oxidase I, 28S ribosomal DNA and elongation factor-1 $\alpha$  and the association with vector competence of tospoviruses. Appl. Entomol. Zool. 42: 71-81.
- Lin, J. S., C. L. Wang, and W. B. Yeh.** 2003. Molecular identification of multiplex-PCR and PCR-RFLP for quarantine pest, *Frankliniella occidentalis* (Pergande). Formosan Entomol. 23: 353-366.
- Liu, Y. C.** 2004. Molecular identification of a plant quarantine pest (*Frankliniella occidentalis*) by one-tube nested PCR targeting ribosomal DNA internal transcribed spacer regions. Plant Prot. Bull. 46: 27-46.
- Lu, F. M., and H. S. Lee.** 1987. The life history and seasonal occurrence of onion thrips (*Thrips tabaci* Lindeman). J. Agri. Res. China 36: 118-124. (in Chinese)
- McLeish, M. J., B. J. Crespi, T. W. Chapman, and M. P. Schwarz.** Parallel diversification of Australian gall-thrips on *Acacia*. Mol. Phyl. Evol. 43: 714-725.
- Moritz, G., C. Delker, M. Paulsen, L. A. Mound, and W. Burgermeister.** 2000. Modern methods for identification of Thysanoptera. EPPO Bulletin 30: 591-593.
- Morris, D. C., and L. A. Mound.** 2003. Thysanoptera phylogeny-the molecular future. Entomologische Abhandlungen 61: 153-155.
- Morris, D. C., M. P. Schwarz, S. J. B. Cooper, and L. A. Mound.** 2002. Phylogenetics of Australian *Acacia*

- thrips: the evolution of behaviour and ecology. *Mol. Phyl. Evol.* 25: 278-292.
- Mound, L. A.** 1976. Thysanoptera. Royal Entomological Society. London.
- Mound, L. A., and D. C. Morris.** 2007. The insect order Thysanoptera: classification versus systematic. *Zootaxa* 1668: 394-411.
- Nault, A. B., A. M. Sheltion, J. L. G. Kaufmann, M. E. Clark, J. L. Werren, J. C. L. Rosa, and G. G. Kennedy.** 2006. Reproductive modes in onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) populations from New York onion fields. *Environ. Entomol.* 35: 1264-1271.
- Rozas, J., J. C. Sanchez-DelBarrio, X. Messeguer, and R. Rozas.** 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- Rugman-Jones, P. F., M. S. Hoddle, and R. Stouthamer.** 2010. Nuclear-mitochondrial barcoding exposes the global pest western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) as two sympatric cryptic species in its native California. *J. Econ. Entomol.* 103: 877-886.
- Rugman-Jones, P. F., M. S. Hoddle, L. A. Mound, and R. Stouthamer.** 2006. Molecular identification key for pest species of *Scirtothrips* (Thysanoptera: Thripidae). *J. Econ. Entomol.* 99: 1813-1819.
- Tamura, K, J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar.** 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24: 1596-1599.
- Toda, S., and T. Murai.** 2007. Phylogenetic analysis based on mitochondrial COI gene sequences in *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in relation to reproductive forms and geographic distribution. *Appl. Entomol. Zool.* 42: 309-316.
- Walsh, K., N. Boonham, I. Barker, and D. W. Collins.** 2005. Development of a sequence-specific real-time PCR to the melon thrips *Thrips palmi* (Thysan., Thripidae). *J. Appl. Entomol.* 129: 272-279.

收件日期：2010年8月16日

接受日期：2010年9月13日



# Genetic Variation of *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in the Pacific Rim

Li-Yueh Tseng<sup>1</sup>, Niann-Tai Chang<sup>1</sup>, Mei-Jung Tseng<sup>2</sup>, and Wen-Bin Yeh<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Plant Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung County 91201, Taiwan

<sup>2</sup> Department of Entomology, National Chung Hsing University, Taichung City 40227, Taiwan

## ABSTRACT

*Thrips tabaci* Lindeman with different characteristics of body color and number of setae are commonly found in imported agricultural products. It is a cosmopolitan pest, and is considered to contain three morphospecies. In this study, both genes of the nuclear internal transcribed spacer 2 (ITS2) region and mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) of onion thrips collected from the Pacific Rim area are used in the genetic diversity analysis. For the Pacific Rim countries the greatest difference in COI sequences, more than 2%, is found in the New Zealand population. Two major haplotype groups were found in the statistical parsimony analysis. One is the haplotype from the coastline of the Americas including the USA, Peru, and Mexico, and the other is from west Pacific countries including China, Japan, and Taiwan. The compilation of sequences in this study and those from the genbank indicate that the greatest variability of COI genes is found in the European population, where three distinct phylogenetic lineages can be found. Lineage A constitutes most of the individuals from Europe, those from lineage C definitely come from Europe, and those from the Pacific Rim mostly fall in lineage B which is a cosmopolitan group. For the ITS sequences, the greatest difference, up to 16%, is found in the population of the United Kingdom. The statistical parsimony network suggests that there is a close affinity in haplotypes among the populations of England, New Zealand, and Japan. Genetic analyses of both genes indicate that *T. tabaci* in Taiwan constitutes only one of the different populations in the world. Thus, the introduction of foreign *T. tabaci* populations should be prevented to try and reduce their hybridization with local population, which may result in serious economic damage.

**Key words:** *Thrips tabaci*, internal transcribed spacer 2, mitochondrial cytochrome oxidase subunit I, genetic variation