

平伏莖白花菜 (*Cleome rutidosperma*) 於臺灣果園之族群分布及其簇葉病發生之研究

戴肇鋒^{1*}、白瓊專¹、李祈益¹

摘要

戴肇鋒、白瓊專、李祈益。2022。平伏莖白花菜 (*Cleome rutidosperma*) 於臺灣果園之族群分布及其簇葉病發生之研究。臺灣農藥科學 12 : 61-78。

平伏莖白花菜 (*Cleome rutidosperma*) 是一種源自非洲熱帶地區之植物，現已常見於亞洲溫暖區域，近年來已成為臺灣新的歸化物種。雜草除了與作物競爭營養外也可為作物的輪替寄主。在 2017 至 2018 年間的臺灣西部果園雜草調查中發現，平伏莖白花菜共於暖季出現於 57 田區，占總調查 40.1%，其中優勢種比例為 40.4%；冷季出現於 43 田區，占總調查 32.6%，其中優勢種比重為 58.1%，此結果顯示平伏莖白花菜已是臺灣西部果園中高潛力之入侵物種。本團隊調查期間於雲林、臺南與高雄共採集 6 株疑似帶有簇葉 (witches' broom) 病徵的植株，並藉由穿透式電子顯微鏡觀察確認其體內含有植物菌質體 (phytoplasma)。以 P1/TINT 引子對使用聚合酶連鎖反應檢測雲林 (TWY1) 與高雄 (TWK1) 菌系，各增幅出 1.6K 之片段產物，與 GenBank 比對不同菌系之 16S rRNA 片段，確認其為 16SrII-A 亞群之菌系。以平原菟絲子 (*Cuscuta campestris*) 系統進行傳菌試驗，觀察平伏莖白花菜的發病進程，包含枝條增生 (proliferation)、花器葉片化 (phylloidy)、嚴重簇葉等。本研究結論為平伏莖白花菜目前為果園優勢種雜草，並有可能成為植物菌質體病害的輪替寄主，須重視其於田間的雜草管理。

關鍵詞：平伏莖白花菜、植物菌質體、簇葉病、族群分布

接受日期：2022 年 4 月 13 日

* 通訊作者。E-mail: cenhz@tactri.gov.tw

¹ 臺中市 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

緒言

平伏莖白花菜 (*Cleome rutidosperma*) 是山柑科 (Capparaceae) 之一年生植物，源自熱帶非洲地區，現常見於亞洲各地之溫暖區域⁽²⁹⁾。山柑科植物曾於過去併入十字花科 (Cruciferae)，但在 2002 年被子植物種系發生學組 (angiosperm phylogeny group, APG) 分類系統歸回原科別，並納入在十字花目 (Brassicales) 下⁽¹¹⁾。較多人熟知的山柑科植物為向天黃 (*Cleome viscosa*) 及其他 *Cleome* 屬的植物，通常用於傳統民俗治療，治療發炎、傷口、發熱、疼痛、焦慮、腹瀉等症狀⁽³⁸⁾，亦有許多研究團隊對於其不同部位進行二次代謝物的研究^(13, 32)。平伏莖白花菜在野外是粉蝶科昆蟲的幼蟲食草⁽¹⁾，由於其植株矮小平伏地面之故，通常被認為是一種低為害潛力的田間雜草。

外來植物若可於自然環境下建立族群則可稱其為歸化植物 (naturalized plant)，若建立之族群量對於國內本地種或生態系有不良影響時則會被稱為入侵植物 (invasive plant)^(33, 34)，為雜草的一種。雜草在田區中可作為作物病害的輪替寄主 (alternative host) 或中間寄主 (intermediate host)，是促進病原菌傳播的因子，其案例如龍葵 (*Solanum nigrum*)、藜 (*Chenopodium album*)、加拿大蓬 (*Erigeron canadensis*)、反支莧 (*Amaranthus retroflexus*)、蓼 (*Polygonum pensylvanicum*) 為馬鈴薯黑腳病 (*Pectobacterium atrosepticum*) 的輪替

寄主⁽¹⁷⁾；野生燕麥 (*Avena fatua*) 可成為大麥、燕麥、小麥露菌病 (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) 的輪替寄主⁽²¹⁾等。

植物菌質體 (Candidatus Phytoplasma) 是一群無細胞壁，侷限於篩管之細菌，可於不同植物上造成 1,000 種以上病害^(10, 20, 24, 26)。病原菌於田間通常藉由葉蟬、木蝨、飛蝨等取食韌皮部汁液的媒介昆蟲傳播，亦可以菟絲子或機械嫁接等方式傳播^(16, 23, 45)。植物菌質體因不像一般細菌可以人工方式培養，故無法以傳統之菌落型態或生化檢測鑑定。早期植物菌質體主要藉由病徵觀察、嫁接傳菌試驗、電顯觀察等方式診斷，鑑定則依據寄主範圍性、血清學特性與媒介昆蟲種類等特性分析。1998 年起有團隊以 16S rRNA 基因序列及 F2NR2 序列片段之 RFLP 作為分群依據^(27, 37)，截至 2016 年為止植物菌質體菌系可以被區分為至少 33 個主要菌群 (16SrI-16SrXXXIII)⁽⁴⁷⁾。臺灣的植物菌質體病害包含梨衰弱病 (PDTW, 16SrII and 16SrX group)、花生簇葉病 (PnWB, 16SrII group)、甘藷簇葉病 (SPWB, 16SrII group)、泡桐簇葉病 (PaWB, 16SrI group)、日日春葉片黃化病 (PLY, 16SrI group)、水稻黃萎病 (RYD, 16SrVI group) 等⁽³⁾。

平伏莖白花菜於臺灣在 1979 年時發表為一種新的歸化植物⁽⁴⁾。本研究團隊在果園草相例行調查時，發現平伏莖白花菜在入侵臺灣後，現於果園已逐漸成為廣泛分佈且優勢之物種草相⁽⁹⁾，並於調查過程

逐漸採集到疑似植物菌質體為害之植株病徵。本研究調查該物種族群分布紀錄，同時分析疑似簇葉病之植株，以傳菌試驗、電顯觀察及分子檢測等，說明此病害的分類地位以及在臺灣的發生情形。

材料與方法

一、平伏莖白花菜於臺灣西部果園族群分布調查

本研究於 2017 年 8 月至 2018 年 8 月調查臺灣西部地區九縣市 132 田區之果園草相，紀錄平伏莖白花菜出現的田區數，若覆蓋比率超過田區之 5% 則視為該田區優勢種，並計算次數，同一田區於冷季及暖季各調查一次⁽⁹⁾，另將該植物分布田區座標點以 Tableau 軟體 Tableau desktop public edition ver. 2019.2.1 繪製地理分布圖。

二、平伏莖白花菜簇葉病調查、病原鑑定與親緣性關係分析

在族群分布調查期間中若有植株出現小葉、簇葉等典型徵狀，則視為可能感染植物菌質體之植株並採集做後續試驗。切取簇葉狀之葉柄，使用 2.5% 戊二醛 (glutaraldehyde) 及 1% 四氧化鐵 (osmium tetroxide, OsO₄) 雙重固定後，以不同濃度 (50%、70%、90%、100%) 之乙醇做系列脫水⁽⁵⁾。使用樹脂包埋樣本後以超薄切片

機進行將材料超薄切片至約 90 nm 的厚度。以飽和醋酸鉍鹽 (uranyl acetate) 及 0.2% 檸檬酸鉛 (lead citrate) 雙重染色後，並置於銅網 (300 mesh) 上以穿透式電子顯微鏡 (JEM-1010, JOEL, Japan) 觀察植物菌質體。

取簇葉狀葉柄 100 mg 放入研磨袋，加入 1mL SCPAP 緩衝液 (0.1% disodium succinate, 0.1% trisodium citrate, 0.15% K₂HPO₄, 0.1% KH₂PO₄, 0.02M sodium ascorbate, and 5% acid-washed insoluble polyvinylpyrrolidone, pH7.0) 進行研磨後，再利用組織與細胞基因體 DNA 純化試劑盒 (GeneMark, Taichung, Taiwan) 萃取植物總量 DNA。以 P1/TINT 為引子對，進行植物菌質體 16S rRNA 片段之聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)⁽³⁹⁾，試驗反應總體積為 20 μL，包含 1 倍反應緩衝液 (10 mM Tris-HCl, pH9.0, 50 mM KCl, 0.01% gelatin, 1.5 mM MgCl₂, 0.1% Triton X-100)、250 μM 的 dNTPs、0.5 μM 的引子對、0.8 Unit 的 ProTaq™ DNA Polymerase (Protech Technology Enterprise Co. Ltd., Taipei, Taiwan) 及 20 ng 的 DNA。反應條件為先 94°C 5min，再進行 94°C 15 sec、55°C 15 sec、72°C 2 min 共 30 個循環，最後再進行 72°C 10 min 完成 PCR 反應。產物以 2% agarose (1x TAE buffer) 之電泳分析，並以 1 kbDNA ladder H3 RTU (GeneDireX Inc. 5348 Vegas Dr. Las Vegas City, Nevada 89108, USA.) 作為核酸標誌物，最後以 Cyber Green 染色觀

察紀錄並照相。將增幅之片段送至明欣生物科技公司以自動定序儀 (Applied Biosystem 3730xl DNA Analyzer, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) 進行定序。所得之序列於 NCBI (National center for Biotechnology Information, 美國國家生物科技資料中心) 的 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 網站 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 進行序列比對。

以最大似然法 (Maximum Likelihood)

進行植物菌質體菌系之親緣分析。挑選自雲林 (Cleome witches'-broom strain TWY1) 及高雄 (Cleome witches'-broom strain TWK1) 兩地採集之菌系，將前述之 16S rRNA 片段登錄於 GenBank (Genbank accession number: MK693681 and MK693682)，另參考資料庫中 15 種 16S rRNA 菌系相同基因，分屬第一、第二、第四群植物菌質體 (表一) (7, 12, 14, 28, 35, 36, 41, 44, 48)，其中 3 菌系來自山柑科寄主的前人

表一、本研究所使用之各種植物菌質體菌系之 16S rRNA 序列來源

Table 1. Source of phytoplasma strains from different 16Sr groups and corresponding 16S rRNA sequence Genbank accession numbers used in this study

RFLP group classification	Strain	Genbank Accession No.	Reference
16SrI-B	Periwinkle leaf yellowing, PLY	FJ437568	7
16SrII-A	Peanut witches'-broom, PnWB	L33765	44
16SrII-A	Cleome witches'-broom, CIWB-Hnsy	EU513212	28
16SrII-A	Cleome witches'-broom strain TWK1	MK693681	This study
16SrII-A	Cleome witches'-broom strain TWY1	MK693682	This study
16SrII-B	<i>Ca. Phytoplasma aurantifolia</i>	U15442	48
16SrII-C	Faba bean phyllody	X83432	35
16SrII-D	<i>Ca. Phytoplasma aurantifolia</i> , CV01	LT558784	41
16SrII-E	<i>Picris echiodes</i> phyllody	Y16393	36
16SrII-F	Cactus WB phytoplasma – YN11	EU099556	14
16SrII-G	Cactus WB phytoplasma – YN23	EU099568	14
16SrII-H	Cactus WB phytoplasma – YN24	EU099569	14
16SrII-I	Cactus WB phytoplasma – YN06	EU099551	14
16SrII-J	Cactus WB phytoplasma – YN07	EU099552	14
16SrII-K	Cactus WB phytoplasma – YN28	EU099572	14
16SrII-L	Cactus WB phytoplasma – YN01	EU099546	14
16SrIV	Lethal yellowing phytoplasma, C1	DQ842528	12

研究^(12, 28, 41)。另以 *Acholeplasma laidlawii* (Genbank accession number: FJ655561) 之 16S rRNA 序列作為外群。所有序列以 Bioedit 7.0.9.0 版 (Ibis Biosciences, Carlsbad, CA, USA) 軟體 ClustalW 進行多序列比對並整理為一致性序列後，再以 DNA 序列分析軟體 Molecular Evolution Genetic Analysis (MEGA) version 10.0.5 套用 Jukes cantorr 模式，計算序列間之遺傳距離，並以 1,000 次重複取樣之 bootstrap replications 值以檢驗親緣關係樹狀圖各支點的可信度，比較各菌系之親緣性。

三、傳菌試驗與病徵發展觀察

以平原菟絲子 (*Cuscuta campestris*) 和日日春桃紅大白心 (*Catharanthus roseus* cv. Pacifica Punch Halo) 為材料進行傳菌試驗以驗證其病原性^(19, 30)。所有植材試驗前先以上述之 P1/TINT 引子對進行 PCR 檢測，確認為不帶菌植株。將菟絲子種子置於帶菌之平伏莖白花菜植株並生長至足量後，纏繞於健康之日日春直到病徵出現。在病徵出現並檢測到植物菌質體後，再將新的菟絲子以相同方式由罹病之日日春傳菌至健康的平伏莖白花菜。試驗期間紀錄病徵發展的植株變化。本試驗各三重複。

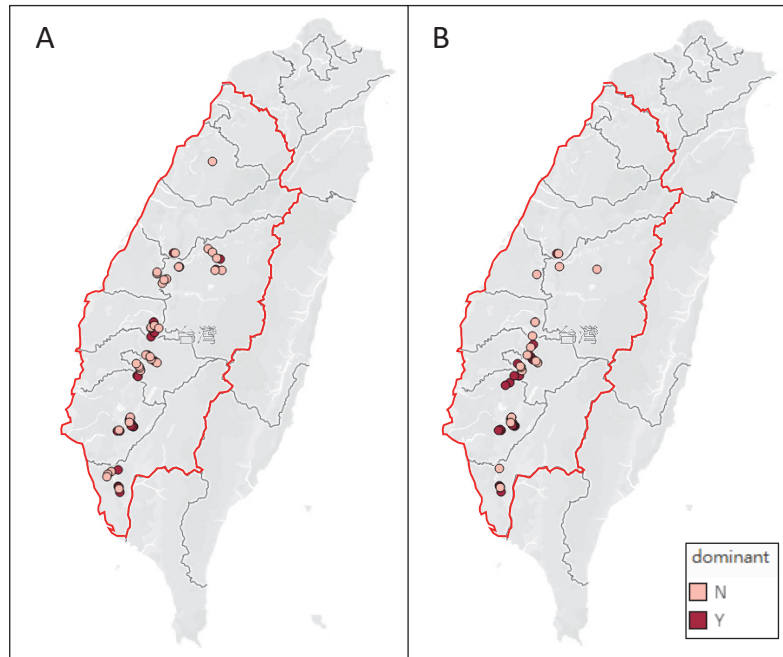
結果與討論

一、平伏莖白花菜族群分布

平伏莖白花菜共於暖季出現於 57 田區，占總調查 40.1%，區域占比高者為雲林 80.0%、嘉義 70.6%、臺南 68.8%、高雄 80.0%；冷季出現於 43 田區，占總調查 32.6%，區域占比高者為嘉義 88.2%、臺南 93.8%、高雄 50.0%。出現本植物的田區中，暖季共計 23 田區為優勢種，比例 40.4%，而冷季共計 25 田區為優勢種，比例 58.1% (圖一、表二)。林等人⁽²⁾ 在調查臺灣南部共 722 樣點時，在道路兩旁、荒廢地、林道兩旁、廢耕地、河床等，發現 236 種歸化植物，其中平伏莖白花菜亦是高雄與屏東地區出現頻度最高的物種之一。本次調查中平伏莖白花菜亦在南部之地區有出現頻度及優勢頻度較高之趨勢。

二、平伏莖白花菜簇葉病調查、病原鑑定與親緣性關係分析

調查期間研究團隊分別採集於雲林 1 樣本、台南 4 樣本、高雄 1 樣本呈現疑似植物菌質體病徵之植株 (圖二)。以雲林與高雄之樣本，取具簇葉病徵之葉柄經超薄切片進行電顯觀察，可以觀察到維管束之篩管內有植物菌質體，細胞呈現大小不一與多型性 (圖三 A、三 B)。健康植株之篩管細胞內則無觀察到菌體。以 P1/TINT 引子對檢測，各地所得之樣本均可以 PCR 增幅出一 1.6K 的 PCR 產物 (圖三 C)。



圖一、平伏莖白花菜於臺灣西部果園之地理分布 (A) 暖季 (B) 冷季。

Fig. 1. Geographical distribution of fringed spiderflower in orchards of western Taiwan: (A) warm season and (B) cold season.



圖二、野外採集之平伏莖白花菜 (A) 健株 (B) 植物菌質體感染植株，顯現簇葉與小葉病徵。

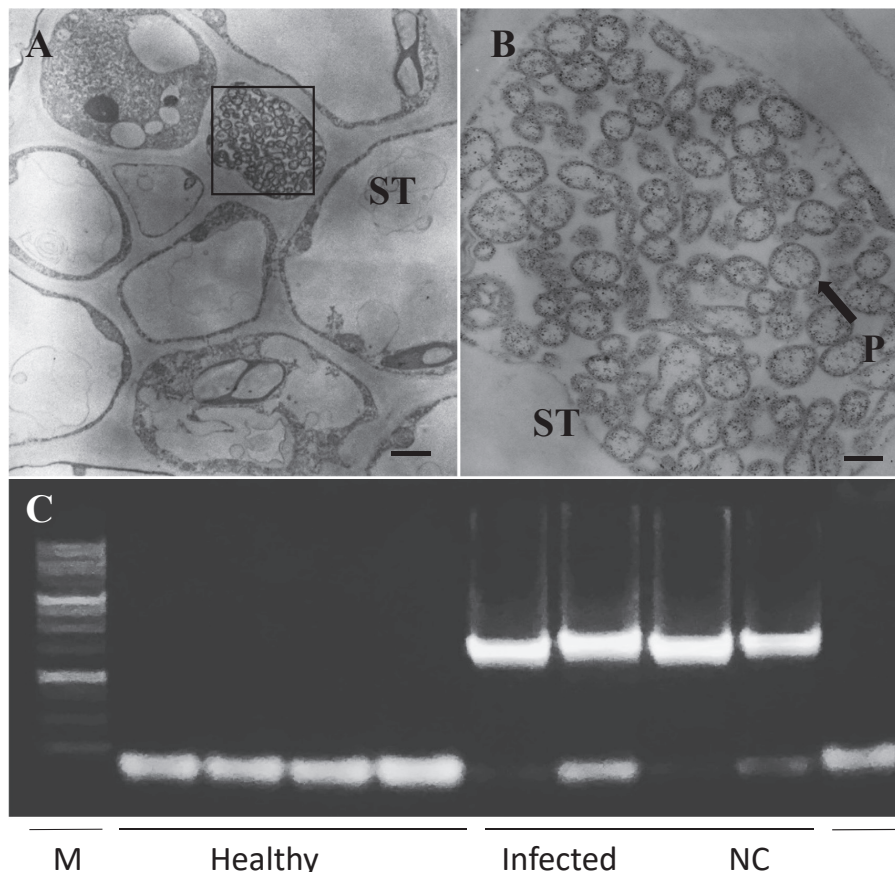
Fig. 2. Fringed spiderflower found in the wilderness: (A) healthy plant and (B) phytoplasma-infected plant showing witches' broom and little leaves as a symptom.

表二、臺灣西部果園中 (A) 暖季與 (B) 冷季之平伏莖白花菜的出現分布

Table 2. Distribution of fringed spiderflower in (A) warm season and (B) cold season in orchards of western Taiwan

Region ¹⁾	Field numbers		Presence		Dominant species		Infected-plant field numbers
			Times	Percentage (%)	Times	Percentage (%)	
Hsinchu	9		0	0.0	0	0.0	0
Miaoli	23		1	4.3	0	0.0	0
Taichung	13		2	15.4	1	50.0	0
Changhua	11	Warm season	2	18.2	0	0.0	0
Nantou	23		13	56.5	2	15.4	0
Yunlin	10		8	80.0	4	50.0	1
Chiayi	17		12	70.6	4	33.3	0
Tainan	16		11	68.8	8	72.7	1
Kaoshiung	10		8	80.0	4	50.0	0
Total	132		57	43.2	23	40.4	2
Region	Field numbers		Presence		Dominant species		Infected-plant field numbers
			Times	Percentage (%)	Times	Percentage (%)	
Hsinchu	9		0	0.0	0	0.0	0
Miaoli	23		0	0.0	0	0.0	0
Taichung	13		2	15.4	1	50.0	0
Changhua	11	Cold season	1	9.1	0	0.0	0
Nantou	23		2	8.7	0	0.0	0
Yunlin	10		3	30.0	0	0.0	0
Chiayi	17		15	88.2	8	53.3	0
Tainan	16		15	93.8	13	86.7	3
Kaoshiung	10		5	50.0	3	60.0	1
Total	132		43	32.6	25	58.1	4

¹⁾ Survey proceeded from August 2017 to August 2018



圖三、植物菌質體檢測結果 (A) 與 (B) 為平伏莖白花菜簇葉枝條之電子顯微鏡觀察，其中圖 (A) 之黑色方框放大後為圖 (B)；(C) 為以 P1/TINT 引子對進行 PCR 反應，增幅部分 16S rRNA 及間隔區，罹病株增幅出一 1.6K 的 PCR 產物。A 條帶為 1 μ m，B 條帶為 200 nm

ST 為篩管；P 為植物菌質體；M 為 1 kb 之 marker；NC 為負對照組

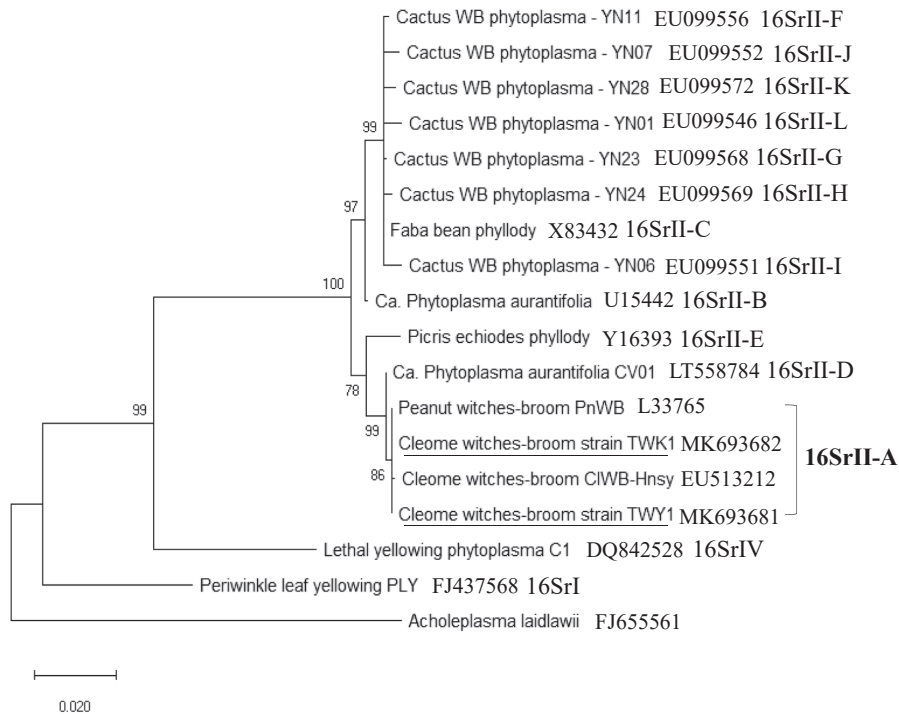
Fig. 3. Phytoplasma detection results. (A) and (B) are transmission electron micrographs of phytoplasma cells within a sieve tube of infected *C. rutidosperma* witches' broom petiole. Black frame in (A) represents a close-up of (B); (C) shows PCR products on 2% electrophoretic gel by using a P1/TINT primer set. 16S rRNA genes and part of an intergenic spacer were amplified on leaf samples of infected fringed spiderflower. Amplification in infected plants revealed a 1.6 kb PCR product.

Bars in (A) = 1 μ m; bar in (B) = 200 nm.

Abbreviation: ST, sieve tube; P, phytoplasma; M, ladder, 1kb; NC, negative control.

以 GenBank 序列比對 TWK1 與 TWY1 菌系，發現序列與 II-A 亞群之各菌系幾乎相同，高達至少 99.92% 之相似度。親緣關係樹狀圖顯示在植物菌質體階層中，第一與第二階層分別將第一群之 PLY 與第四群之 C1 菌系區隔，剩下第二群之菌系全數被歸類於一階層。第二群的次階層中主

要分為主要兩分支，一個為 16SrII-A、16SrII-D、16SrII-E 亞群而另一個為其他 16SrII 亞群。本研究登錄之兩菌系與花生簇葉病 (PnWB) 及平伏莖白花菜之海南菌系 (CIWB-Hnsy) 為同一群，皆屬於 16SrII-A 亞群 (圖四)。



圖四、以最大似然法比對本研究之兩菌系 TWK1、TWY1 與其他菌系之親緣關係樹狀圖。試驗進行 1,000 次重複取樣，枝條上的數字代表 bootstrap 值，僅標示高於 65 之值。底線之兩菌系為本研究所蒐集。

Fig. 4. A maximum-likelihood tree based on 16S rRNA gene sequence illustrates the relationships between different phytoplasmas and infected plants collected for this study: TWK1 and TWY1. Probability values were determined through bootstrap analysis with 1,000 re-samples; probability values greater than 75% are shown above the internal branches. Two sequences, which are underlined, were collected for this study.

罹病之六植株採集園區包含香蕉、番石榴、柑橘與棗子園，若本草持續為果園優勢種，此病害將有擴散潛力。文獻回顧中發現，目前這些作物上的植物菌質體病害包含香蕉之 banana wilt disease (屬 16SrIII，於新幾內亞)⁽¹⁸⁾、棗子之 jujube witches'-broom disease (屬 16SrV，於中國)⁽⁴³⁾、萊姆之 lime witches'-broom disease (屬 16SrII，於法國)⁽⁴⁸⁾ 等。另部分菌系之病害 (16SrI、16SrIII) 為害柑橘，呈現與柑橘黃龍病類似之病徵^(15, 46)。

山柑科植物如前述已有若干報導指出其為植物菌質體之寄主。向天黃在感染植物菌質體後會造成小葉徵狀，在不同的研究團隊中都有蒐集與分析的紀錄。在中國的報導中，病害如花生簇葉病屬於 II-A 亞群 (CIWB-Hnsy 菌系)⁽²⁸⁾，但在印度發現其為 II-D 亞群 (CV01 菌系)⁽⁴¹⁾。平伏莖白花菜在牙買加是一種常見草相，也被報導有植物菌質體的紀錄 (C1 菌系)^(12, 22)，該研究蒐尋椰子致死性黃化病的輪替寄主，發現平伏莖白花菜、*Stachytarpheta jamaicensis*、*Macroptilium lathyroides* 等有偵測到菌體 (C1 菌系)。致死萎凋病在美洲被視為棕櫚植物一種致命性的病害，遍布於美洲南部、中美洲及加勒比海地區。臺灣並無第四群植物菌質體之為害紀錄，該病原被視為一種檢疫病原菌。臺灣地區目前常見之植物菌質體病害之寄主如梨、花生、甘藷、芝麻⁽⁶⁾ 皆被歸屬為 16SrII-A 亞群，推論本病害可能是由這些罹病寄主經媒介昆蟲傳播至平伏莖白花菜。

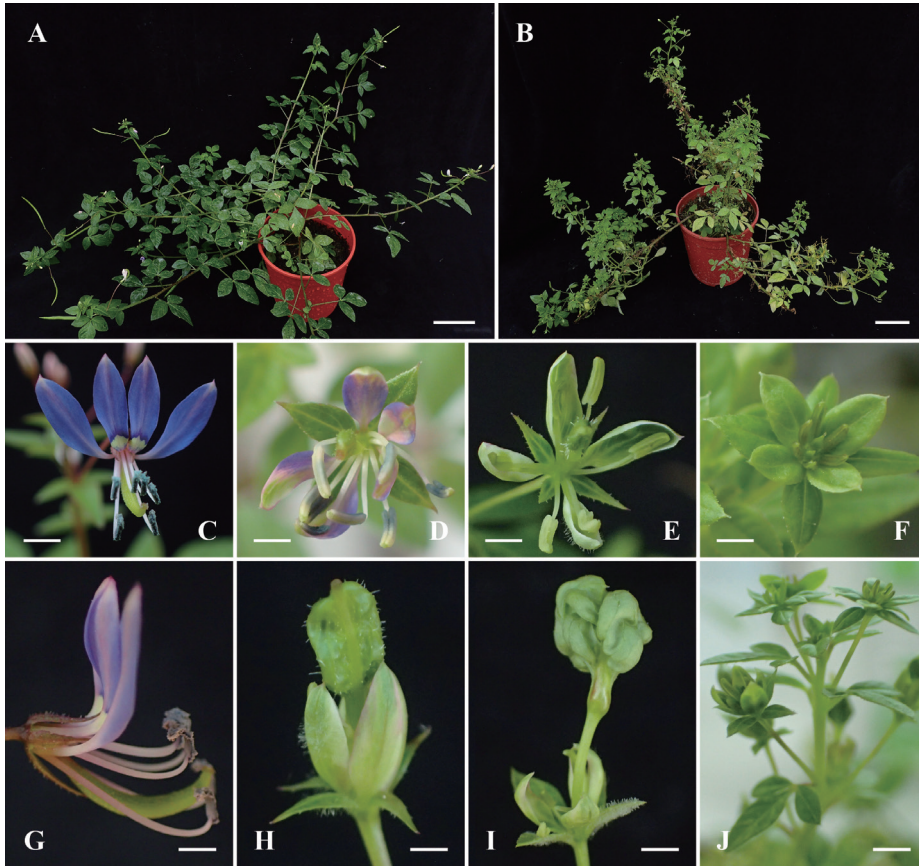
三、發病進程觀察

經菟絲子纏繞後健株植物逐漸出現徵狀。日日春以菟絲子纏繞傳菌後，約 75 天開始出現異常徵狀，而平伏莖白花菜約於菟絲子纏繞後 68 天出現徵狀。有關日日春的病徵發展可參考 Su 等人於 2011 年所發表的文章中花生簇葉病菌系的病徵發展⁽⁴⁰⁾。在平伏莖白花菜的徵狀觀察上，比對健康植株 (圖五 A、五 C、五 G)，病株首先出現小葉徵狀並有些微枝條增生，待更多小葉增生後花器開始葉化。花器逐漸產生部分或整個綠化 (virescence) 現象 (圖五 D、E)、以及花器葉片化 (phyllody) 的徵狀 (圖五 F)；在更多花器葉化產生後可觀察到花蕊逐漸膨大並維持綠化。雄蕊與雌蕊逐漸癒合形成新的枝條 (圖五 H、五 I)，開始以其為基點長出更多具有花器葉化現象的花朵 (圖五 J)，此時全植株嚴重簇葉 (圖五 B)。

本試驗事先嘗試以嫁接法傳菌但不成功，可能因物種間親合性使接穗不能存活。菟絲子傳菌時會吸收實驗植物之養分導致植株有落葉現象，以平伏莖白花菜較嚴重，可能使病徵先出現小葉再有花器異常，與嫁接法的進程不一。

四、結論

1968 年臺灣雜草相普查時並無平伏莖白花菜之紀錄⁽⁸⁾，但本調查中可見其已廣泛蔓延。平伏莖白花菜自發芽至開花僅約



圖五、植物菌質體感染平伏莖白花菜後之發病進程。(A) 與 (B) 為全株，(C) 至 (J) 為花器。(A) 健康全株；(B) 感病後產生簇葉徵狀之全株；(C) 健康花器；(D) 至 (F) 感病之花器逐漸展現部分至完全花器綠化與花器葉片化；(G) 健康之花瓣；(H) 至 (I) 感病之花瓣逐漸聚合與膨大病產生新枝條；(J) 以花器葉片化之花為基點生長出更多花器。

A 與 B 條帶為 5 cm，C 至 J 條帶為 0.2 cm。

Fig. 5. Disease progression of phytoplasma-infected fringed spiderflower. (A) and (B) are whole plants, and (C) to (J) are flowers. (A), healthy plant; (B), infected plant showed severe witches' broom; (C), healthy flower; (D-F), infected flowers gradually showed partial and complete virescence and phyllody; (G), healthy sepal; (H-I), infected sepals merged, enlarged, and formed new shoot; (J), more phyllody flowers grew from a basic point, which grew sepal originally.

Bars in (A) and (B) = 5 cm; bars in (C) to (J) = 0.2 cm.

21 日，且果莢在種子成熟後具有爆炸性可主動散播，加速草種擴展。本研究配合衛星定位蒐集雜草分布之座標，未來將可藉由持續蒐集相關資料進行時間與空間之散布模式探討。

植物菌質體在田間多以媒介昆蟲傳播，建立實驗室蟲傳系統將是未來重點工作。蟲傳系統近期有團隊發表葉蟬飼養與傳菌的方式⁽³¹⁾，但不同種類的葉蟬喜好的植物類型以及各個地區會出現的蟲種皆不同，在建立系統上不如想像容易。本研究團隊目前正在蒐集田間昆蟲相的資料，期望進一步了解農田生態系中本病害的詳細生活史。本試驗以 16S rRNA 基因作為初步分子鑑定的標準，未來也會再利用不同的標的基因，如 *secY* 基因進一步分析⁽²⁵⁾。同時亦持續蒐集臺灣不同植物菌質體病害之菌系，以評估這些菌系之親緣關係。

從本研究結果與過去文獻來看，平伏莖白花菜可以作為不同植物菌質體菌系的輪替寄主。未來將持續調查發現本病害的果園中果樹的帶菌情形，以確認田區寄主範圍性，因了解寄主範圍性有助於預測一種病害在新的地區是否具有入侵潛力。對於植物菌質體寄主範圍性的研究過去並不多，在病害發生的田區採集不同植物調查其植物菌質體感染的情況，可釐清病害的傳播生態，提供病害防治更精準的依據。若未來可以建立相關研究模式，對於此類侷限性病原的入侵與擴散風險之評估會有所助益。目前已有團隊開始針對全球植物

菌質體菌系、寄主植物與媒介昆蟲進行資料彙整成一系統，本系統目前涵蓋 324 種半翅目媒介、44 個種、129 的菌系、649 種植物寄主，期望未來在這些數據上可以有更完善的應用⁽⁴²⁾。

引用文獻

1. 何健鎔、陳寶樹、劉中慧、劉淑芬、謝玲、謝秋華、陳顯彰、何季耕。2015。阿里山山美村達娜伊谷地區之蝴蝶多樣性之研究。台灣生物多樣性研究 17：223-251。
2. 林朝欽、周富三、蕭其文、王豫煌。2012。歸化植物擴散之分布模式建立與預測。國家公園學報 22：11-20。
3. 洪挺軒、林長平。2011。台灣農作物重要植物菌質體病害研究現況。農業試驗所特刊第 152 號，農作物害蟲及其媒介病害整合防治技術研討會專刊，第 63-72 頁。石憲宗、張宗仁編。行政院農業委員會農業試驗所、行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。臺中、臺北。
4. 郭長生、吳天賞。1979。一種新紀錄歸化植物—成功白花菜。嘉南學報 5：9-12。
5. 陳脈紀、劉興業。1974。水稻黃萎病之電子顯微鏡研究。植保會刊 16：42-55。
6. 張哲銘、詹富智、蘇秋竹。2018。臺灣引起長豇豆花器葉化症植物菌質體之特性分析。臺灣農藥科學 4：53-67。

7. 蔡孟旅。2010。日日春葉片黃化病植物菌質體核醣體 RNA，*rplV-rpsC*，*secY* 與 *tuf* 基因之譜系分析。國立臺灣大學植物病理與微生物學研究所學位論文。臺北。98 頁。
8. 臺灣大學農學院農藝系。1968。臺灣耕地之雜草 Vol.1。國立臺灣大學農學院農藝系。臺北。505 頁。
9. 戴肇鋒、白瓊專、李祈益。2020。臺灣西部八種果園雜草種類與優勢種群調查。臺灣農藥科學 8 : 33-64。
10. Agrios, G. N. 2005. Plant disease caused by Mollicutes: phytoplasmas and spiroplasmas, pp. 687-703. *In: Plant Pathology*, 5th ed. Elsevier Academic Press, San Diego, CA, USA. 952pp.
11. The Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* 141: 399-436.
12. Brown, S. E., and McLaughlin, W. A. 2011. Identification of lethal yellowing group (16SrIV) of phytoplasmas in the weeds *Stachytarpheta jamaicensis*, *Macroptilium lathyroides* and *Cleome rutidosperma* in Jamaica. *Phytopathogenic Mollicutes* 1: 27-34.
13. Burkf, B. A., Chan, W. R., Honkan, V. A., Blount, J. F., and Manchand, P. S. 1980. The structure of Cleomeolide, an unusual bicyclic diterpene from *Cleome viscosa* L. (*Capparaceae*). *Tetrahedron* 36: 3489-3493.
14. Cai, H., Wei, W., Davis, R. E., Chen, H., and Zhao, Y. 2008. Genetic diversity among phytoplasmas infecting *Opuntia* species: virtual RFLP analysis identifies new subgroups in the peanut witches'-broom phytoplasma group. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 1448-1457.
15. Chen, J., Pu, X., Deng, X., Liu, S., Li, H., and Civerolo, E. 2009. A phytoplasma related to '*Candidatus Phytoplasma asteris*' detected in citrus showing huanglongbing (yellow shoot disease) symptoms in Guangdong, P. R. China. *Phytopathology* 99: 236-242.
16. Christensen, N. M., Axelsen, K. B., Nicolaisen, M., and Schulz, A. 2005. Phytoplasmas and their interactions with hosts. *Trends Plant Sci.* 10: 526-535.
17. Dallyn, S. L., and Sweet, R. D. 1970. Weed control methods, losses and costs due to weeds and benefits of weed control in potatoes. *FAO Int. Conf. on Weed Control*: 210-228.
18. Davis, R. I., Kokoa, P., Jones, L. M., Mackie, J., Constable, F. E., Rodoni, B. C., Gunua, T. G., and Rossel, J. B. 2012. A new wilt disease of banana plants associated with phytoplasmas in Papua New Guinea (PNG). *Australasian Plant Dis. Notes* 7: 91-97.
19. Příbylová, J., and Špak, J. 2013. Dodder

- transmission of phytoplasmas, pp. 41-46. *In*: M. Dickinson & J. Hodgetts [eds.], *Phytoplasma: Methods and protocols*, Methods in molecular biology, vol. 938. Humana Press, Hertfordshire, UK. 434pp.
20. Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K., and Asuyama, H. 1967. Mycoplasma-or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulownia witches' broom. *Jpn. J. Phytopathol.* 33: 259-266.
 21. Eshed, N., and Wahl, I. 1975. Role of wild grasses in epidemics of powdery mildew on small grains in Israel. *Phytopathology* 65: 57-63.
 22. Harrison, N. A., Womack, M., and Carpio, M. L. 2002. Detection and characterization of a lethal yellowing (16SrIV) group phytoplasma in Canary Island date palms affected by lethal decline in Texas. *Plant Dis.* 86: 676-681.
 23. Hogenhout, S. A., Oshima, K., Ammar, E. D., Kakizawa, S., Kingdom, H. N., and Namba, S. 2008. Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. *Mol. Plant Pathol.* 9: 403-423.
 24. The IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team—Phytoplasma Taxonomy Group. 2004. 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 1243-1255.
 25. Lee, I. M., Bottner-Parker, K. D., Zhao, Y., Davis, R. E., and Harrison, N. A. 2010. Phylogenetic analysis and delineation of phytoplasmas based on *secY* gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 2887-2897.
 26. Lee, I. M., Davis, R. E., and Gunderson-Rindal, D. E. 2000. Phytoplasma: phytopathogenic mollicutes. *Annu. Rev. Microbiol.* 54: 221-255.
 27. Lee, I. M., Gunderson-Rindal, D. E., Davis, R. E., and Bartoszyk, I. M. 1998. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48: 1153-1169.
 28. Li, Y., Tian, G. Z., Xu, Q. C., Piao, C. G., Wang, L. F., and Guo, M. W. 2009. Molecular identification of cleome witches'-broom phytoplasma. *Acta Phytopathol. Sin.* 39: 377-384.
 29. Mabblerley, D. J. 1997. *The plant-book: A portable dictionary of the vascular plants.* Cambridge University Press, UK. 858 pp.
 30. Marcone, C., Ragozzino, A., and Seemüller, E. 1997. Dodder transmission of alder yellows phytoplasma to the experimental host *Catharanthus roseus* (periwinkle). *Eur. J. Forest Pathol.* 27: 347-350.

31. Pagliari, L., Chucho, J., Bosco, D., and Thiéry, D. 2019. Phytoplasma transmission: insect rearing and infection protocols. *Methods Mol. Biol.* 1875: 21-36.
32. Phan, N. M., Nguyen, T. P., Le, T. D., Mai, T. C., Phong, M. T., and Mai, D. T. 2016. Two new flavonol glycosides from the leaves of *Cleome viscosa* L. *Phytochem. Lett.* 18: 10-13.
33. Pyšek, P., Richardson, D. M., Rejmánek, M., Webster, G. L., Williamson, M., and Kirschner, J. 2004. Alien plants in checklists and floras: towards better communication between taxonomists and ecologists. *Taxon* 53: 131-143.
34. Richardson, D. M., Pyšek, P., Rejmánek, M., Barbour, M. G., Panetta, F. D., and West, C. J. 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Divers. Distrib.* 6: 93-107.
35. Schneider, B., Cousin, M. T., Klinkong, S., and Seemüller, E. 1995. Taxonomic relatedness and phylogenetic positions of phytoplasmas associated with disease of faba bean, sunnhemp, sesame, soybean, and eggplant. *J. Plant Dis. Prot.* 102: 225-232.
36. Seemüller, E., Marcone, C., Lauer, U., Ragozzino, A., and Göschl, M. 1998. Current status of molecular classification of the phytoplasmas. *J. Plant Pathol.* 80: 3-26.
37. Seemüller, E., Schneider, B., Mäurer, R., Ahrens, U., Daire, X., Kison, H., Lorenz, K. H., Firrao, G., Avinent, L., Sears, B. B., and Stackebrandt, E. 1994. Phylogenetic classification of phytopathogenic mollicutes by sequence analysis of 16S ribo-somal DNA. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44: 440-446.
38. Singh, H., Mishra, A., and Mishra, A. K. 2018. The chemistry and pharmacology of *Cleome* genus: A review. *Biomed. Pharmacother.* 101: 37-48.
39. Smart, C. D., Schneider, B., Blomquist, C. L., Guerra, L. J., Harrison, N. A., Ahrens, U., Lorenz, K. H., Seemüller, E., and Kirkpatrick, B. C. 1996. Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2988-2993.
40. Su, Y. T., Chen, J. C., and Lin, C. P. 2011. Phytoplasma-induced floral abnormalities in *Catharanthus roseus* are associated with phytoplasma accumulation and transcript repression of floral organ identity genes. *Mol Plant Microbe Interact.* 24: 1502-1512.
41. Thorat, V., Bhale, U., Sawant, V., More, V., Jadhav, P., Mane, S. S., Nandanwar, R. S., Tripathi, S., and Yadav, A. 2016. Alternative weed hosts harbors 16SrII group phytoplasmas associated with little leaf and witches' broom diseases of various crops in India. *Phytopathogenic Mollicutes* 6: 50-55.
42. Trivellone, V. 2019. An online global

- database of Hemiptera-Phytoplasma-Plant biological interactions. *Biodivers. Data J.* 26: e32910.
43. Wang, J., Song, L., Jiao, Q., Yang, S., Gao, R., Lu, X., and Zhou, G. 2018. Comparative genome analysis of jujube witches'-broom phytoplasma, an obligate pathogen that causes jujube witches'-broom disease. *BMC Genomics* 19: 689.
44. Wei, W., Lee, I. M., Davis, R. E., Suo, X., and Zhao, Y. 2008. Automated RFLP pattern comparison and similarity coefficient calculation for rapid delineation of new and distinct phytoplasma 16Sr subgroup lineages. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 2368-2377.
45. Weintraub, P. G., and Beanland, L. 2006. Insect vectors of phytoplasmas. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 91-111.
46. Wulff, N. A., Fassini, C. G., Marques, V. V., Martins, E. C., Coletti, D. A. B., Teixeira, D. D. C., Sanches, M. M., and Bové, J. M. 2019. Molecular characterization and detection of 16SrIII group phytoplasma associated with huanglongbing symptoms. *Phytopathology* 109: 366-374.
47. Zhao, Y., and Davis, R. E. 2016. Criteria for phytoplasma 16Sr group/subgroup delineation and the need of a platform for proper registration of new groups and subgroups. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66: 2121-2123.
48. Zreik, L., Carle, P., Bové, J. M. and Garnier, M. 1995. Characterization of the mycoplasma-like organism associated with witches'-broom disease of lime and proposition of a *Candidatus* taxon for the organism, '*Candidatus* phytoplasma aurantifolia'. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 449-453.

Study of Distribution of Fringed Spiderflower (*Cleome rutidosperma*) in Orchards of Taiwan and Witches'-Broom Disease Caused by Phytoplasma

Chao-Feng Tai^{1*}, Chyong-Juan Bor¹, Chi-Yi Li¹

Abstract

Tai, C. F., Bor, C. J., and Li, C. Y. 2022. Study of distribution of fringed spiderflower (*Cleome rutidosperma*) in orchards of Taiwan and witches'-broom disease caused by phytoplasma. Taiwan Pestic. Sci. 12: 61-78.

Fringed spiderflower (*Cleome rutidosperma*), which originated in tropical Africa and is now common in warmer regions of Asia, has become a naturalized plant species in Taiwan in recent years. Weeds compete for nutrition against crops and also serve as alternative hosts for many diseases. A survey of weed species targeting 132 orchards in western Taiwan from August 2017 to August 2018 found that fringed spiderflower appeared in 57 orchards (40.1%) during warmer seasons, and it became dominant, which is defined as a weed species covering over 5% of the ground, in 23 of the 57 orchards (40.4%). During colder seasons, the plant also appeared in 43 orchards (32.6%) and became dominant in 25 of the 43 orchards (58.1%). The findings suggest that fringed spiderflower has high potential to become dominant now that it has successfully invaded western Taiwan. During this investigation, six plants showing symptoms of witches' broom were collected from Yunlin, Tainan, and Kaohsiung and were also confirmed to be infected with phytoplasmas following testing with the TEM technique. The sequence of a 1.6 kb PCR product amplified with a P1/TINT primer set from the samples collected from both Kaohsiung and Yunlin was identical to the 16S rRNA sequence of 16SrII-A subgroup phytoplasmas. Analysis with a dodder transmission

Accepted: April 13, 2022.

* Corresponding author, E-mail: cenhz@tactri.gov.tw

¹ Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Taichung

system confirmed that the symptoms of witches' broom found in the fringed spiderflowers were indeed caused by phytoplasma. Thus, this study sheds light on the potential for fringed spiderflower to be an alternative host of phytoplasma and stresses the importance of weed management.

Key words: *Cleome rutidosperma*, phytoplasma, witches'-broom disease, population distribution