

# 以形態分類及分生技術探討菸草粉蝨(*Bemisia tabaci*)具複合種及眾多生物小種之證據

謝再添

## 前 言

煙草粉蝨屬半翅目 (Hemiptera)，胸吻群 (Sternorrhyncha)，粉蝨科 (Aleyrodidae)，伯粉蝨屬 (*Bemisia*)之刺吸式昆蟲，其為害之寄主植物目前有記錄已超過 900 種對農業及設施業產生嚴重之衝擊 (柯等 2002)。

由世界各地地理區域收集之生理小種發現：此害蟲正處於快速進化過程的複合種 (Species complex)，其中包括許多生理小種(biotypes)、煙草粉蝨以及銀葉粉蝨兩個獨立物種等。本文擬整理煙草粉蝨的歷史記錄、同種異名及其地理分佈，並以 ITS 1 及 RAPD-PCR 等分生技術比較世界各地地理區次族群間之差異，另外就地中海地區之 B 及 Q 生理小種對殺蟲劑抗性與感性之基因以 RT-PCR 作其基因質體分析及相關系統分類樹之分析與探討。

## 煙草粉蝨之經濟重要性

1980 年代，此蟲開始其寄主植物範圍擴增，並且有傳播新的植物病例之報導(Henneberry et al.,1998)；1986 年此蟲首度入侵美國佛羅里達嚴重為害聖誕紅(*Poinsettia*)盆栽植物，之後逐漸擴散蔓延為害蔬菜、花卉、番茄及棉花等，因此有 Florida biotype、Poinsettia biotype 及 B-biotype 等生理小種之名稱。1990 年代以後逐漸擴散至加州，密度高時甚至蓋滿汽車檔風玻璃，被人吸進口腔內以及呼吸道，而對農業的影響是加州地區自 1980 年地中海果實蠅造成恐慌以來，另一次蟲害的大震撼，因而有超級大害蟲(Superbug)之稱(Baringaga, 1993)。因 B-biotype 媒介南瓜銀葉病(Squash silverleaf)、番茄不正常之早熟(Tomato uneven ripening)及聖誕紅葉脈脆弱(Vein-clearing of foliage)等新的植物病害，因此 B-biotype 於 1993 年即被認為有另立一新種之條件，並被命名為銀葉粉蝨學名為 *B. argentifolii* 以有別於煙草粉蝨。

## 煙草粉蝨同物異名之歷史記錄

煙草粉蝨在 1889 年首度於希臘之煙草上發現，而命名為 *Aleyrodes tabaci* Gennadius，當時即預測此物種具有成為嚴重害蟲之潛力。

表 1. 同物異名之煙草粉蝨在不同採集地及寄主植物之發現過程

Table 1. Synonyms of *B. tabaci* (Gennadius) with their type locality and host plants

(Perring, 2001)

Species	Type locality	Type host plant
<i>Aleyrodes tabaci</i> (Gennadius, 1889)	Greece	Tobacco, <i>Nicotiana</i> sp., Family Solanaceae
<i>Aleyrodes inconspicua</i> (Quaintance, 1900)	FL, USA	<i>Physalis</i> sp., Family Solanaceae
<i>Bemisia inconspicua</i> (Quaintance) (Quaintance and Baker, 1914)	FL, USA	<i>Physalis</i> sp., Family Solanaceae
<i>Bemisia emiliae</i> (Corbett, 1926)	Sri Lanka	<i>Emilia sonchifolia</i> (L.) DC. Ex Wight, Family Asteraceae
<i>Bemisia signata</i> (Bondar, 1928)	Brazil	<i>Nicotiana glauca</i> Graham, Family Solanaceae
<i>Bemisia bahiana</i> (Bondar, 1928)	Brazil	<i>Nicotiana tabacum</i> , L., Family Solanaceae
<i>Bemisia costa-limai</i> (Bondar, 1928)	Brazil	<i>Euphorbia hirtella</i> Boiss., Family Euphorbiaceae
<i>Bemisia gossypiperda</i> (Misra and Lamba, 1929)	India, Pakistan	Cotton, <i>Gossypium</i> sp., Family Malvaceae
<i>Bemisia achyranthes</i> (Singh, 1931)	India	<i>Achyranthes aspera</i> L., Family Amaranthaceae
<i>Bemisia hibisci</i> (Takahashi, 1933)	Taiwan	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L., Family Malvaceae
<i>Bemisia longispina</i> (Priesner and Hosny, 1934)	Egypt	<i>Psidium guajava</i> L., Family Myrtaceae
<i>Bemisia gossypiperda</i> var. <i>mosaicivectura</i> (Ghesquiere, 1934)	Zaire	<i>Jatropha multifida</i> L., Family Euphorbiaceae
		Cassava, <i>Manihot</i> sp., Family Euphorbiaceae
<i>Bemisia goldingi</i> (Corbett, 1935a)	Nigeria	Cotton, <i>Gossypium</i> sp., Family Malvaceae
<i>Bemisia nigeriensis</i> (Corbett, 1935a)	Nigeria	Cassava, <i>Manihot</i> sp., Family Euphorbiaceae
<i>Bemisia rhodesiaensis</i> (Corbett, 1936)	Zimbabwe	Tobacco, <i>Nicotiana</i> sp., Family Solanaceae
<i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) (Takahashi, 1936)	Mariana Islands	<i>Brassica oleracea</i> , L., Family Cruciferaceae
<i>Bemisia manihotis</i> (Frappa, 1937)	Madagascar	Cassava, <i>Manihot</i> sp., Family Euphorbiaceae
<i>Bemisia vayssierei</i> (Frappa, 1938)	Madagascar	Tobacco, <i>Nicotiana</i> sp., Family Solanaceae
<i>Bemisia</i> ( <i>Neobemisia</i> ) <i>hibisci</i> (Visnya, 1941)	Taiwan	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L., Family Malvaceae
<i>Bemisia</i> ( <i>Neobemisia</i> ) <i>rhodesiaensis</i> (Visnya, 1941)	Zimbabwe	Tobacco, <i>Nicotiana</i> sp., Family Solanaceae
<i>Bemisia loniceriae</i> (Takahashi, 1957)	Japan	<i>Lonicera japonica</i> Thunb. Ex Murray, Family Caprifoliaceae
<i>Bemisia minima</i> (Danzig, 1964)	Georgia	<i>Elsholtzia patrinii</i> (Lepech.) Garcke, Family Lamiaceae
<i>Bemisia miniscula</i> (Danzig, 1964)	Georgia	<i>Lamium purpureum</i> L., Family Lamiaceae

11 年之後，Quaintance (1900) 在美國西南部的燈籠草(*Physalis alkekengi*)命名為另一新種為 *Aleyrodes inconspicua* Quaintance。

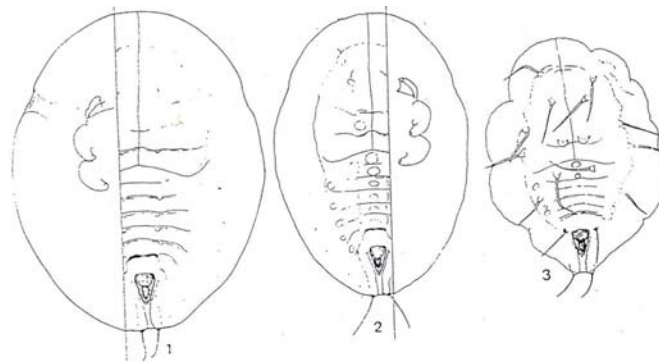
15 年後，Quaintance and Baker (1914)另成立一新屬為伯粉蝨屬 (*Bemisia*)並將 *Aleyrodes inconspicua* Quaintance 移至此新屬，其後經過 50 年間(1914~1964)，其他同種異名分別在 14 個國家之不同寄主植物被發現命名(表 1.)，其中最主要事件為 Takahashi (1931)將 *Aleyrodes tabaci* 併入伯粉蝨屬中，此乃為現今煙草粉蝨學名 *Bemisia tabaci* (Gennadius)之由來。

表 2. 煙草粉蟲命名過程中之主要大事紀

Table 2. Major events in the nomenclature of *B. tabaci*(Gennadius)  
(Perring, 2001)

Event	Reference
<i>Aleyrodes tabaci</i> described	Gennadius, 1889
<i>Bemisia</i> described as new genus, with <i>B. inconspicua</i> as type species	Quaintance and Baker, 1914
<i>Bemisia achyranthes</i> synonymized with <i>Bemisia gossypiperda</i>	Corbett, 1935b
<i>Bemisia hibisci</i> synonymized with <i>B. tabaci</i>	Takahashi, 1936
<i>B. hibisci</i> and <i>B. rhodensis</i> placed in sub-genus <i>Bemisia</i> ( <i>Neobemisia</i> )	Visnya, 1941
<i>Bemisia manihotis</i> and <i>Bemisia vayssierei</i> synonymized with <i>B. tabaci</i>	Takahashi and Mamet, 1952
<i>Aleyrodes inconspicua</i> , <i>Bemisia costa-limai</i> , <i>Bemisia bahiana</i> , <i>Bemisia signata</i> , <i>Bemisia gossypiperda</i> var. <i>mosaicivectura</i> , <i>Bemisia longispina</i> , <i>Bemisia goldingi</i> , and <i>Bemisia nigeriensis</i> , <i>Bemisia rhodesiaensis</i> synonymized with <i>B. tabaci</i>	Russell, 1957
<i>Bemisia minima</i> and <i>Bemisia miniscula</i> synonymized with <i>B. tabaci</i>	Danzig, 1966
<i>Bemisia inconspicua</i> , <i>Bemisia emiliae</i> , and <i>Bemisia lonicerae</i> newly synonymized with <i>B. tabaci</i> .	Mound and Halsey, 1978
Other species listed as synonyms include <i>Aleyrodes tabaci</i> , <i>Bemisia inconspicua</i> , <i>Bemisia ameliae</i> , <i>Bemisia gossypiperda</i> , <i>Bemisia</i> ( <i>Neobemisia</i> ) <i>hibisci</i> , <i>Bemisia</i> ( <i>Neobemisia</i> ) <i>rhodesiaensis</i> , and <i>Bemisia lonicerae</i>	

1978 年以前有 6 件有關煙草粉蟲命名的主要事件(表 2.)，發生最突顯的事件為 **Russell (1957)**將 9 種不同命名的種類列為同種異名，故煙草粉蟲因棲息作物不同而有 tobacco、cotton 及 sweetpotato whitefly 等不同的稱呼。



(1)平滑葉面 (2)中間型 (3)多毛葉面

圖 1. 菸草粉蟲若蟲在不同葉表面之寄主之形態差異。

Fig. 1. Different morphological types of nymph for *Bemisia tabaci* on host with different leaf types. (Martin, 1987)

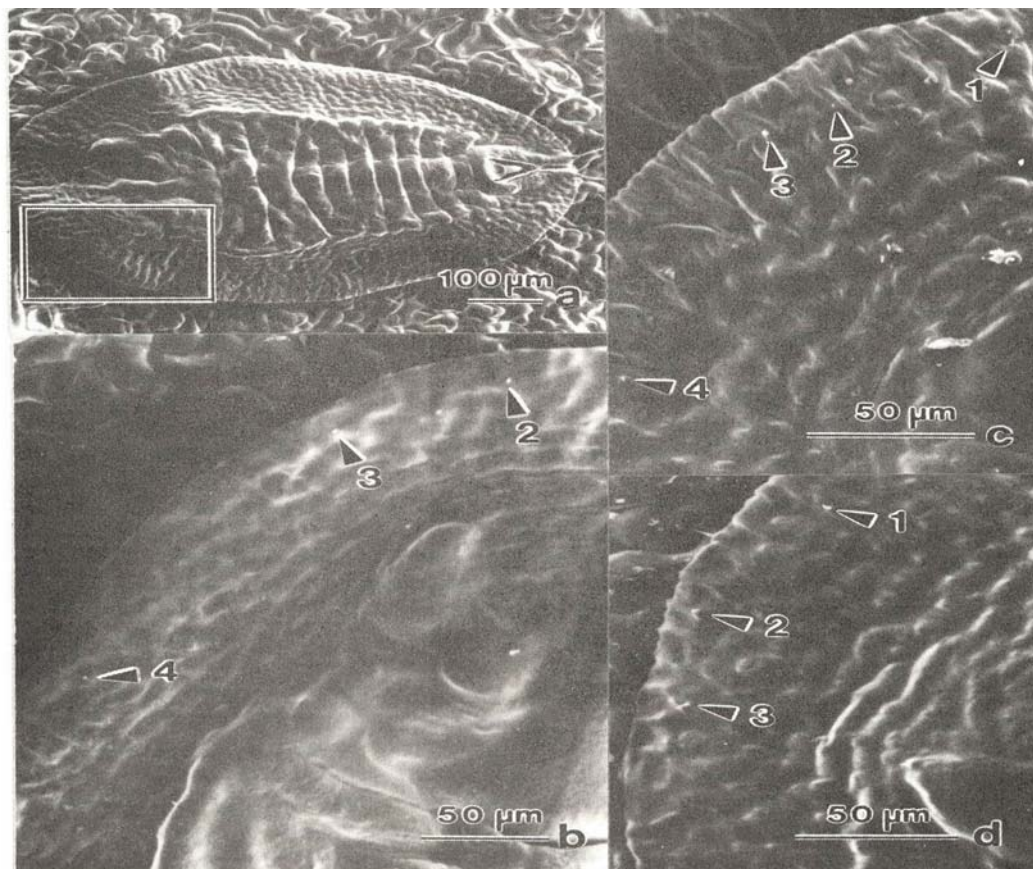
## 何以會產生同種異名的事件呢？

煙草粉蟲為一食性雜之害蟲，故其若蟲外部形態常隨寄主植物而異，如剛毛的數目、形狀及長短，因此容易造成鑑定上之困擾，圖 1.即顯示粉蟲若蟲在具不同絨毛之葉表之寄主所演化出其外部形態之明顯差異 (Martin,1987)；另外 Mound (1963) 實驗證實煙草粉蟲飼育於不同物理條件下之同種寄主植物上，會對若蟲外部形態造成極明顯之變異。

## 煙草粉蝨與銀葉粉蝨形態及傳播病害上之差異

依據粉蝨四齡若蟲之形態外觀區分，煙草粉蝨及銀葉粉蝨有以下兩點之差異處：

一、前端蠟狀緣飾在煙草粉蝨是窄而細，而銀葉粉蝨則寬而粗的。



(Brown, et al., 1995)

圖 2. 以掃描式電子顯微鏡(SEM)對煙草粉蝨及銀葉粉蝨若蟲前端進行觀察(b,c：煙草粉蝨 A 及 N 生理小種，d：銀葉粉蝨)。

Fig. 2. Scanning electron microscopy(SEM) of dorsal pupal case from three whitefly population.(b,c : biotype A and N of *B. tabaci*, d : *B. argentifolii*)

二、另一個較明顯特徵區分則是其前端亞前緣剛毛對(Brown et al., 1995)，在銀葉粉蝨僅有三對，而煙草粉蝨則具四對(圖 2.)。

而兩者對寄主病害傳播之種類及能力亦有差異：銀葉粉蝨除了與煙草粉蝨都會傳播 *geminivirus* 外，尚會傳播南瓜之銀葉病及番茄不正常之早熟症，但其對萵苣黃葉病則較煙草粉蝨為弱(Brown et al., 1995)。

## 煙草粉蝨生理小種在全世界之數量及其分布

煙草粉蝨之生理小種分佈地理區域—Perring (2001)歸納共可分成七大類群分別是：

- 一、新世界(New world)：包括 A、C、N 及 R 生理小種。
- 二、泛世界(Cosmopolitan)：包括銀葉粉蝨及 B2 生理小種。
- 三、貝寧(Benin)：E 生理小種；西班牙(Spain)：S 生理小種。
- 四、印度(India)：H 生理小種。
- 五、蘇丹(Sudan)：L 生理小種；西班牙(Spain)：Q 生理小種；奈及利亞(Nigeria)：J 生理小種；埃及(Egypt)：未知生理小種。
- 六、土耳其(Turkey)：M 生理小種；韓國(Korea)及海南島(Hainan)：未知生理小種。
- 七、澳洲(Australia)：AN 生理小種，故煙草粉蝨至少有 16 個生理小種分布在世界各地(Perring, 2001)。

## 利用 ITS 1 及 RAPD-PCR 等分生技術區分在樹薯及其他作物之煙草粉蝨生理小種

樹薯是僅次稻米、玉米作物之第三大食糧來源；但樹薯經常被煙草粉蝨為害，其中著名之非洲樹薯嵌紋病毒(ACMV)目前僅知之媒介昆蟲亦是煙草粉蝨 *B. tabaci*，煙草粉蝨另一被認為具經濟重要性之原因：在於其對殺蟲劑易產生抗藥性及在作物上發生危害嚴重。

ITS 1 或 RAPD-PCR 2 種分生技術對於鑑別煙草粉蝨眾多形態不易區分之生理小種被認為是可行的一種手段( Bird, 1957 ; Costa & Russell, 1975 ; Bird & Maramorosch, 1978 )同時也有助於作各生理小種之近緣關係之探討，表 3.即採集 39 個不同地區及作物別之生理小種，其中作物主要包括非洲樹薯(15 個)印度樹薯(2 個)，其他作物尚包括：小黃瓜、茄子、馬鈴薯、黃豆及 *Ipomoea spp.*(一種雜草)等 8 種。

表 3. 菸草粉蝨作為 RAPD-PCR 及 ITS 1 分析鑑別用各供試生理小種一覽表

Table 3. *B. tabaci* populations used in RAPD-PCR and ITS 1 analysis for biotype identification (Abdullahi et al., 2003)

Species/ biotype	Location	Acronym	Host
<i>Bemisia tabaci</i>	Ibadan (Nigeria)	Nigeria-Cowpea38	Cowpea
Biotype Q	Almeria (Spain)	Spain-Cucumber18	Cucumber
<i>B. tabaci</i>	Agadir (Morocco)	Morocco-Cucumber48	Cucumber
Biotype B	Arizona (USA)	USA-Cotton19	Cotton
Biotype A	Arizona (USA)	USA-Cotton20	Cotton
<i>B. tabaci</i>	Jalna (India)	India-Cotton47	Cotton
Biotype S	Norwich (UK)	Spain- <i>Ipomoea</i> 59	<i>Ipomoea</i> spp.
<i>B. tabaci</i>	Jalna (India)	India-Eggplant44	Eggplant
<i>B. tabaci</i>	Bovar (CAR)	CAR-Cassava24	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Kisangani (Congo)	DRC-Cassava55	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Kampala (Uganda)	Uganda-Cassava50	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Bussia (Kenya)	Kenya-Cassava60	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Abidjan (Cote d'Ivoire)	CI-Cassava28	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Nzerekore (Guinea)	Guinea-Cassava30	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Bouake (Cote d'Ivoire)	CI-Cassava26	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Karaj (Iran)	Iran-Tomato56	Tomato
<i>B. tabaci</i>	Norwich (UK)	UK-Tomato49	Tomato
<i>B. tabaci</i>	Kisangani (DR Congo)	DRC-Tomato52	Tomato
<i>B. tabaci</i>	Ada (Ghana)	Ghana-Cassava33	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Ibadan (Nigeria)	Nigeria-Cassava05	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Onne (Nigeria)	Nigeria-Cassava06	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Bangalore (India)	India-Cassava65	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Trivandrum (India)	India-Cassava66	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Limbe (Cameroon)	Cam-Cassava23	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Lusaka (Zambia)	Zambia-Cassava07	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Gbojome (Togo)	Togo-Cassava31	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Kinshasha (DR Congo)	DRC-Cassava17	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Kisangani (DR Congo)	DRC-Cassava53	Cassava
<i>B. tabaci</i>	Kaiama (Nigeria)	Nigeria-Tomato35	Tomato
<i>B. tabaci</i>	Aboki (Nigeria)	Nigeria-S.potato36	Sweet potato
<i>B. tabaci</i>	Katsina (Nigeria)	Nigeria-Tomato37	Tomato
<i>B. afer</i>	Kent (UK)	Baf57UK	Tomato
<i>B. tabaci</i>	Coimbatore (India)	India-Eggplant43	Eggplant
<i>B. tabaci</i>	Abidjan (Cote d'Ivoire)	CI-Cowpea29	Cowpea
<i>B. tabaci</i>	Ibadan (Nigeria)	Nigeria-Limabean78	Limabean
<i>B. tabaci</i>	Fontem (Cameroon)	Cam-Pepper81	Pepper
<i>B. tabaci</i>	Cotonou (Benin)	Benin-Soybean80	Soybean
<i>B. tabaci</i>	Atakpane (Togo)	Togo-Potato79	Potato
<i>B. tabaci</i>	Funtua (Nigeria)	Nigeria-Cotton77	Cotton

分析鑑別方法之順序分別是：不同作物或地區之生理小種樣本收集，將樣本浸泡保存在 70% 酒精溶液中，其中模式標本 A 及 B 生理小種由 J. K. Brown 教授(亞利桑那大學植物系)友善提供；Q 生理小種由 D. Jansen 博士(CIFA)提供，S 生理小種由 I. Bedford 博士(JIC)提供，標本保存好後進行 DNA 萃取，同時取一固定濃度之 DNA 液用於 RAPD-PCR 及作 ITS-ribosomal DNA 增幅放大用，然後經轉殖定序後作系統樹分類定其間親緣關係，由圖 3. 可發現以 RAPD-PCR 之分析得煙草粉蝨各生理小種之 band pattern 分別是：第 1 至第 3 行：非洲樹薯生理小種；第 4 行：S 生理小種；第 5 至第 6 行：印度樹薯生理小種；第 7 行：印度茄子生理小種；第 8 行：奈及利亞牛豆生理小種；第 9 行：Q 生理小種；第 10 行：B 生理小種；第 11 行：A 生理小種；第 12 行：作為外群之 *B. afer*。

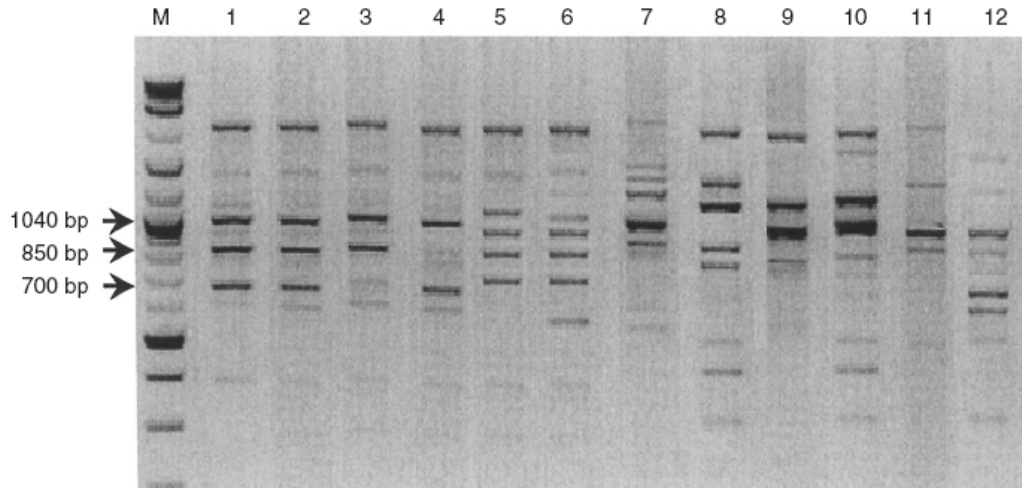


圖 3. 以 RAPD-PCR 對煙草粉蝨重要不同生理小種之分析圖譜。

Fig. 3. RAPD-PCR fragments generated from *B. tabaci* obtained from different host plants and locations, using the Operon primer H16. Lanes 1-3, cassava Africa; lane 4, biotype S ; lanes 5 and 6, cassava India ; lane 7, eggplant India ; lane 8, cowpea Nigeria ; lane 9, biotype Q ; lane 10, biotype B ; lane 11, biotype A; lane 12, *B. afer*. (Abdullahi et al., 2003)

以 RAPD-PCR 技術分析各作物或地理區煙草粉蝨之生理小種發現(圖 3.)來自非洲樹薯之生理小種(lane1-lane3)在位置 1040 及 850 具有共同鹼基對，而 S 生理小種依 RAPD-PCR 之分析圖譜則跟此類生理小種之相似度高；至於印度樹薯生理小種僅在位置 700 與非洲生理小種有共同鹼基對呈現，而其本身尚在其他位置有 2~3 個不同之鹼基對呈現，故其與非洲生理小種之類緣關係不似 S 生理小種來得高。值得一提的是是以 RAPD-PCR 分析 A,B 及 Q 生理小種；A 與 B 除了在接近 1040 位置有相同之鹼基對呈現外，其餘尚至少 1~2 個位置有不同之鹼基對呈現，反倒是 B 與 Q 生理小種之鹼基對位置共同性大於 B 與 A 生理小種(Abdullahi et al., 2003)。

## 以 RAPD-PCR 及 ITS 1 等技術 將不同生理小種作系統分類

一、以 RAPD-PCR 系統分類分析(圖四)發現：兩大分類群分別是樹薯生理小種(含 S 生理小種)及非樹薯生理小種(包括 A、B、Q 及其他作物生理小種)，在非樹薯生理小種類群中 B 與 Q 生理小種之近緣關係大於 B 之於 A 生理小種；而樹薯小種類群中 S 生理小種之於非洲樹薯生理小種之近緣關係又高於印度生理小種( Abdullahi et al., 2003 )。

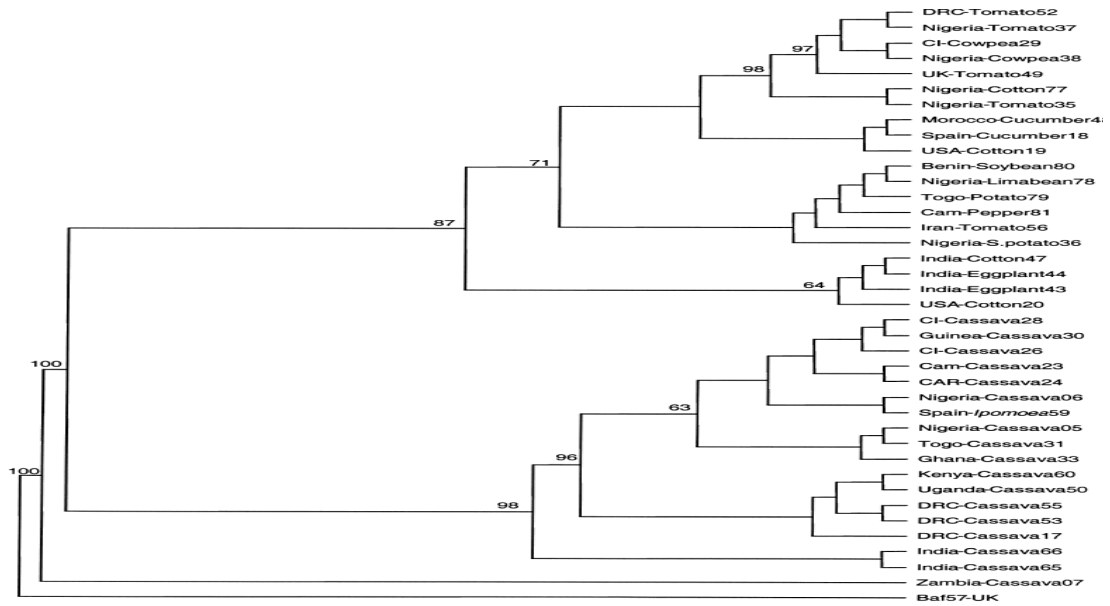


圖 4. 利用 RAPD-PCR 分析煙草粉蝨 39 個生理小種之系統分類樹圖。

Fig. 4. Dendrogram deduced from matrix of pairwise distances in RAPD-PCR analysis between 39 populations of *B. tabaci*, using the neighbour-joining method. (Abdullahi et al., 2003)

二、以 ITS 1 系統分類分析(圖 5.)發現：樹薯生理小種與 A、S 生理小種同屬一大分類群，其他作物小種與 B、Q 生理小種屬另一大分類群，有趣的是由其系統分類圖來看，利用此技術分析 A 與 B 生理小種似乎可以獲得更明顯之差異區分開來(Abdullahi et al., 2003)。

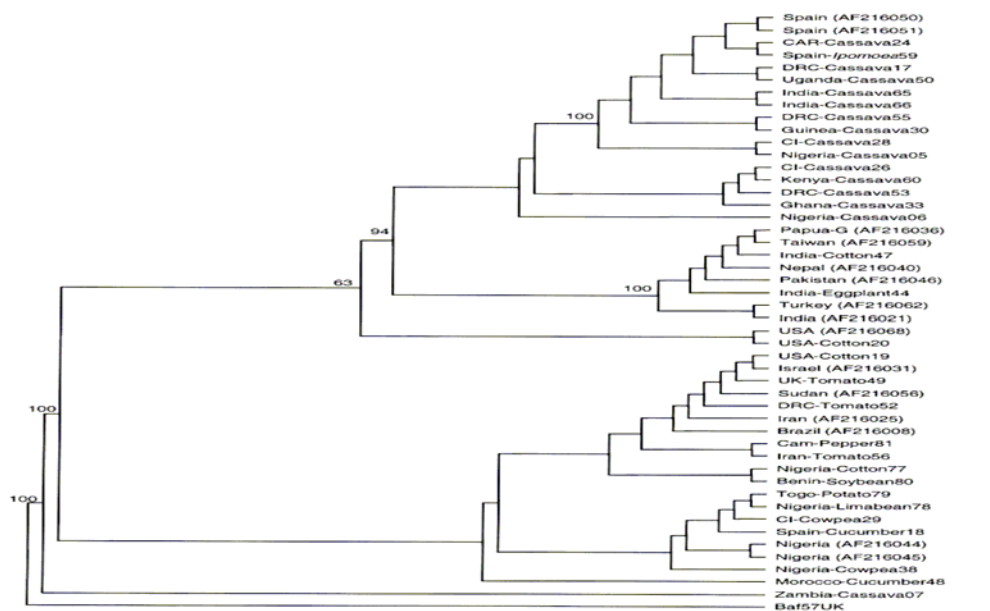


圖 5. 以 ITS 1 核苷酸序列建構煙草粉蝨不同之生理小種之系統分類樹。

Fig. 5. Phylogenetic tree constructed from ITS 1 nucleotide sequence from *B. tabaci* and other whiteflies collected from different host plants and geographical regions. Numbers on tree reflect bootstrap values (%) (Abdullahi et al., 2003)

## 經由對藥劑抗葯性之基因變異提供煙草粉蝨 B 與 Q 生理小種新的遺傳基因隔離之証明

Ffrench-Constant 等(2004)就提出昆蟲對藥劑之抗葯性,其實可能涉及其基因型(genotype)變異而影響其外在表現(phenotype)之差異一個很好的例證;而 Anstead 等(2004)也以桃蚜(*Myzus persicae*)為例子,舉出其對合成除蟲菊與 DDT 之抗葯性,其實分別來自鈉腔道 2 個點突變(point mutation)所引起-即 L1014H(此謂 Leucine 在 1014 位置改變成 Histidine)及 M918T(此謂 Methionine 在 918 位置改變成 Threonine);另外 Morin 等(2002)也證實:在煙草粉蝨 B 生理小種對合成除蟲菊之抗葯性亦是來自於鈉腔道兩個點基因突變分別是:M918V(Methionine to Valine at position 918)及 L925I(Leucine to Isoleucine at position 925),其中 L925I 與 B 生理小種田間抗藥品系關係更是密切。

煙草粉蝨 B 與 Q 生理小種早存於地中海盆地區為該地區主要之經濟害蟲,兩者對單一殺蟲劑如有機磷劑及合成除蟲菊類均具有良好之抗葯性,但對於有機磷劑(歐殺松)加上合成除蟲菊(芬普寧)之抗葯性,則具有程度上之差異,探討它們之間的差異;作者利用從世界各地收集到之 B、Q 生理小種(表 4.計有 6 個 B 生理小種及 7 個 Q 生理小種)探討它們間抗葯基因之變異分析。

表 4. 由世界收集菸草粉蝨 6 個 B 及 7 個 Q 生理小種對其 r1-B,r1-Q, s-B 及 s-Q 之頻度分配表 (Alon et al., 2006)

Table 4. The frequency of r1-B,r1-Q, s-B and s-Q in six B and seven Q *B. tabaci* strains surveyed worldwide

Strain	Biotype	Year	Country	Host	n	Male genotypes <sup>a</sup>				Female genotypes <sup>a</sup>				Frequency <sup>a</sup>		
						r1	r2	s	n	r1r1	r1r2	r2r2	r1s		r2s	ss
B-ref	B	1987	Israel	Cotton	10	0	0	10	0	—	—	—	—	—	s = 1	
USA-B	B	1994	USA	Cotton	16	0	0	16	8	0	0	0	0	8	s = 1	
MEX	B	2003	Mexico	Tomatoes	14	11	0	3	8	3	0	0	4	0	1	r1 = 0.7; r2 = 0; s = 0.3
TUS	B	2003	USA	Cotton	14	9	0	5	8	4	0	0	4	0	0	r1 = 0.7; r2 = 0; s = 0.3
JMB	B	2003	Brazil	Cabbage	16	15	0	1	8	7	0	0	1	0	0	r1 = 0.94; r2 = 0; s = 0.06
Ashalim-03	B	2003	Israel	Melons	20	20	0	0	0	—	—	—	—	—	r1 = 1	
IT-99	Q	1999	Italy	Ornamentals	14	3	9	2	10	0	0	5	1	4	0	r1 = 0.12; r2 = 0.68; s = 0.20
ALM-99	Q	1999	Spain	Vegetables	8	0	3	5	8	0	1	2	0	5	0	r1 = 0.04; r2 = 0.54; s = 0.42
GER-01	Q	2001	Germany	Hibiscus	15	1	13	1	9	0	0	8	0	1	0	r1 = 0.03; r2 = 0.91; s = 0.06
Arava-03	Q	2003	Israel	Peppers	19	7	12	0	0	—	—	—	—	—	r1 = 0.37; r2 = 0.63; s = 0	
CRE-04	Q	2004	Crete	Vegetables	16	10	6	0	8	3	4	0	1	0	0	r1 = 0.66; r2 = 0.31; s = 0.03
ESP-04	Q	2004	Spain	Tomatoes	16	8	8	0	7	2	4	1	0	0	0	r1 = 0.53; r2 = 0.47; s = 0
JAP-05	Q	2005	Japan	Ornamentals	15	11	4	0	9	6	3	0	0	0	0	r1 = 0.79; r2 = 0.21; s = 0

生物試驗(Bioassay):所有測試之供試蟲(包含 B 及 Q 生理小種)飼育於棉花葉片上於定溫 26±2°C、相對濕度 60% 及光照週期為 16 小時光照及 8 小時黑暗,所有生物在未作葯劑試驗前,嚴禁接觸合成除蟲菊殺蟲劑。

表 5. 葉片浸漬芬普寧混合定量之歐殺松對煙草粉蟲 B、Q 及敏感品系之生理小種之對機數分析

Table 5. Log-dose probit mortality data for three strains of *B. tabaci* tested with fenpropathrin plus 1000 mg/ml acephate in a leaf-dip bioassay (48 h.) (Alon et al., 2006)

Strain	LC <sub>50</sub> Fenpropathrin µg/ml <sup>a</sup>	95% CI <sup>b</sup>	Resistance ratio <sup>c</sup>
Arava-03 (Q)	9.5	3.4–27.4	1900
Ashalim-03 (B)	1.25	0.56–2.8	250
B-Ref (B)	0.005	0.0005–0.05	

生物藥效測試方法：將供試生物以葉片浸漬藥液方式執行生物藥效試驗其中供試藥劑-芬普寧藥液濃度為從 0~100ug/ml 而混合之歐殺松則固定在濃度為 1,000ug/ml，如此測試時間為 48 小時後，觀察其相對死亡率並以 Polo-PC 計算其 LC<sub>50</sub>，結果如表 5.以 Q 生理小種(Arava-03)測得之 LC<sub>50</sub> 為 9.5g/ml，其抗性係數為敏感品系( LC<sub>50</sub> =0.005g/ml )之 1,900 倍；而 B 生理小種(Ashalim-03)測得之 LC<sub>50</sub> 為 1.25g/ml，其抗性係數亦高達 250 倍，為何會有如此明顯之差異呢？

於是作者以 RT-PCR 尋找其中基因突變之位置在 B 與 Q 及感性品系等生理小種中有何不同，利用 RT-PCR(即反轉錄酶聚合酶鏈鎖反應)，首先將總 RNA 經由反轉錄酶合成 cDNA，然後將 cDNA 放大及定序，將基因體 DNA 萃取分析再定序後作其系統分類樹分析。結果在表四中可發現敏感性品系之抗性因子 r1、r2 均缺如，而 B 生理小種則具 r1 抗性因子及程度不一之感性因子，至於 Q 生理小種除了具 r1 抗性因子外，尚具 r2 抗性因子及含量不一之 s 因子 (Alon et al., 2006)。

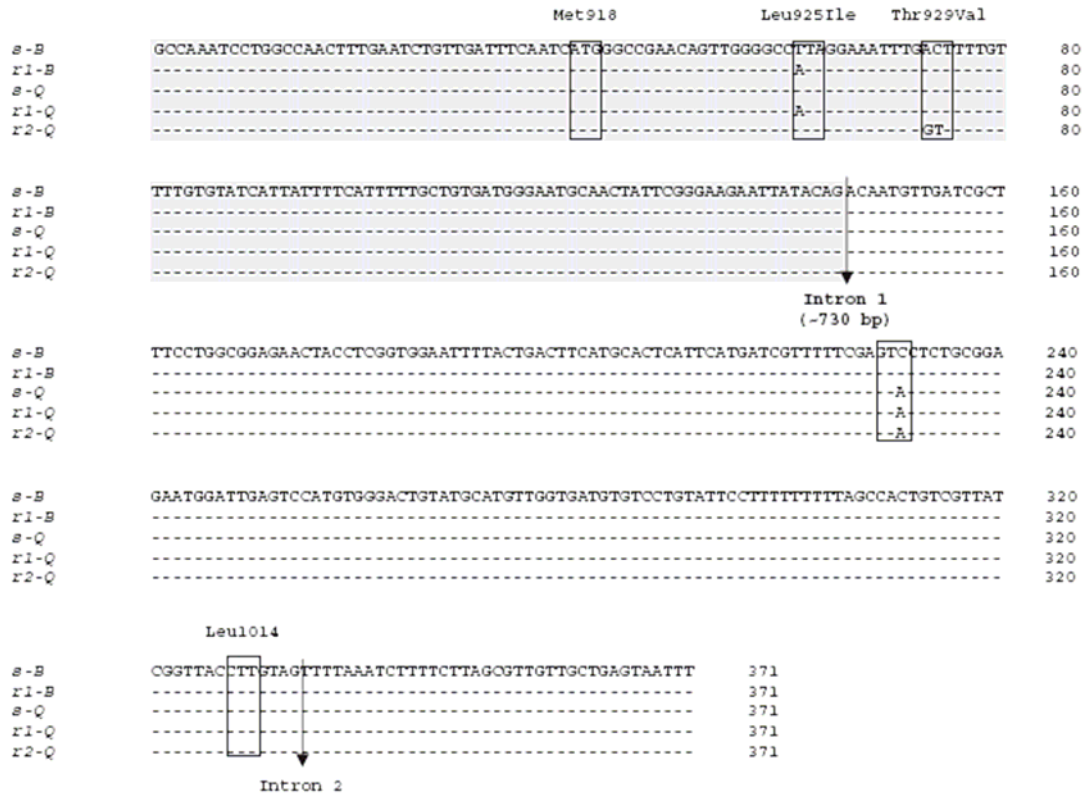


圖 6. 由菸草粉蝨 B 及 Q 各兩種生理小種的鈉腔基因 IIS4-6 區之核苷酸序列放大圖。

Fig. 6. Nucleotide sequence of the IIS4-6 region of the *B. tabaci para*-type sodium channel gene, amplified from the two B(B-ref and Ashalim-03) and two Q (Arava-03 and IT-99) strain.

(Alon et al., 2006)

表 6. 菸草粉蝨抗、感各 5 個品系其鈉腔對偶基因座核苷酸之序列差異

Table 6. Nucleotide variation in five resistant and susceptible *B. tabaci para*-type sodium channel alleles.

(Alon et al., 2006)

Allele	L9251(61)	T929V (73-74)	164	200	206-207	213	241	248	257	277	342	357	383	395-397	399	426	437	443	474	484	511
r1-B 1	A	AC	T C TC	T A A T	A T G C	CCA	T G A G A G C														
r1-B 2	A	AC	T C TC	T A A T	A T G C	CCA	T G A G A G C														
s-B 1	T	AC	T C TC	T A A T	A T G C	CCA	T G A G A G C														
r1-Q 1	A	AC	C T CT	T T - T	A C A T	CCA	C A C T A G T														
r2-Q 1	T	GT	C T CT	T T - T	A C A T	CCA	C A C T A G T														
r2-Q 2	T	GT	C T CT	T T - T	A C A T	CCA	C A C T A G T														
s-Q 1	T	AC	C C CT	T A - C	G T G C	CCA	T G C T T C C														
s-Q 2	T	AC	C C CT	T A - C	G T G C	CCA	T G C T T C C														
s-Q 3	T	AC	C C CT	T A - C	G T G C	CCA	T G C T T C C														
s-Q 4	T	AC	C C CT	G A - T	A C G C	---	T G C T A G T														

Allele	532	561	572	580	586	591	600	620	713-715	736	750	768	799	803-804	815	817	819	858	874	
r1-B 1	C	A	T C T	T A A	---	T A T T	TA	G G G C T												
r1-B 2	C	A	T C T	T A T	---	T A T T	TA	G G G C T												
s-B 1	C	A	T C T	T A A	---	T A T T	TA	G G G C T												
r1-Q 1	C	T	T G T	C G A	---	C T A T	TA	A A A A T												
r2-Q 1	C	T	T G T	C G A	---	C T A T	TA	A A A A T												
r2-Q 2	C	T	T G T	C G A	---	C T A T	TA	A A A A T												
s-Q 1	G	T	T G T	T G A	AAA	T A A A	AT	G A A A -												
s-Q 2	G	T	C G T	T G A	AAA	T A A T	TA	G A A A T												
s-Q 3	G	T	T G T	T G A	---	T A A A	AT	G A A A -												
s-Q 4	C	T	T G C	C G A	---	C T A T	TA	G A A A T												

透過 RT-PCR 之分析，作者提供吾人一可資區分之基因突變點在 B 與 Q 生理小種之差異(見圖 6.)，在圖 6.中分別有 r1-B biotype 及 r1-Q biotype，具 s 之 Q biotype 及具 r2 之 Q biotype 共 5 種生理小種在 IIS 4-6 區之核苷酸序列，結果具 r1 抗性因子發生基因變異之相對位置為 60，其鹼基對由 T 變成 A，因此導致 Leucine 在 925 位置改變成 Isoleucine；而具 r2 抗性因子發生基因變異的相對位置為 73~74，其鹼基對分別由 AC 變成 GT，因此導致 Threonine 在 929 位置改變成 Valine. 由此可見 Q 生理小種因同時具有 r1 及 r2 抗性因子，故其基因變異亦有兩個位置分別是 L965I 及 T929V，其中 L925I 之貢獻則來自於 B-生理小種(Alon et al., 2006)。

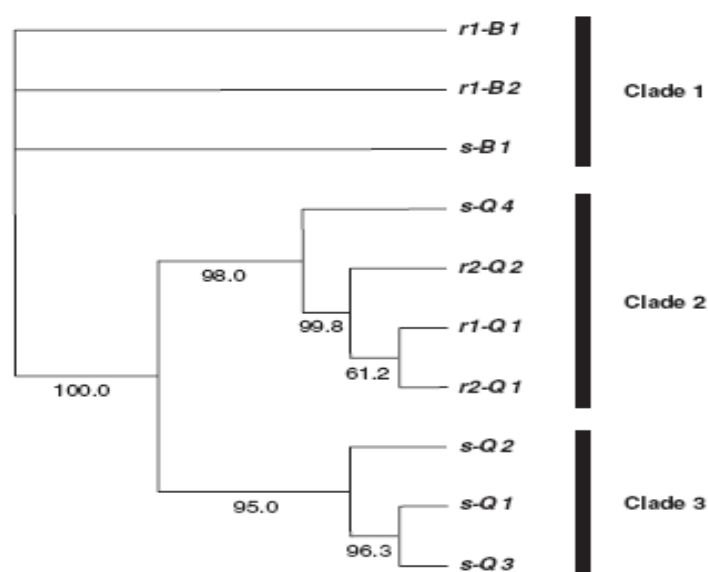


圖 7. 菸草粉蝨抗、感性對偶基因座在 IIS4-6 區之最大相似系統分類分析。

Fig. 7. Maximum likelihood analysis of resistant (r) and susceptible (s) allele sequences produced from the first exon (145 bp) and first intron (730bp) in the IIS4-6 domain of the *B. tabaci para-type* sodium channel gene. (Alon et al., 2006)

將具有 r1 之 B、Q 生理小種,r2 之 Q 生理小種及具 s 之 B、Q 生理小種作其核苷酸解序發現(表 6.)所有 B 生理小種(具 s 感性因子或 r1 抗性因子)可發現其在 61, 620 位置有些微差異其餘則相同，故可歸納為第一群(clade 1，圖 7.)，另外一群則包括所有 Q 生理小種具 r1 或 r2 抗性因子者及具 s 感性因子之 Q4，由表六中發現 S-Q4 在 257, 277, 342, 474, 484, 511, 532 及 736 等位置均與 S-Q1, S-Q2, S-Q3 等不同而相同於具 r1 或 r2 之 Q 生理小種，故其與 r1-Q、r2-Q 歸類為第二群(clade 2，圖 7.)，剩下第三群則包括除了 S-Q4 外之所有感性 Q 生理小種(Alon et al., 2006)。

## 結 語

雖然 B 生理小種已提升為一新種，則其他生理小種應以同樣標準對待，因此所有分類地位之研究及討論，都應回歸到種的定義上，以生物種的概念(biological species concept)，菸草粉蝨是處於快速高度變異的種類，因此將銀葉粉蝨獨立成一新種是否恰當？有待商榷；再者，由於目前生物技術的發展及知識的進展，在模式種概念(typological species concept)下，並不適合將銀葉粉蝨列為菸草粉蝨之同種異名，因此應仍歸屬於菸草粉蝨複合種(species complex) 或菸草粉蝨 B 生理小種比較恰當 (Martin et al., 2000)。

Brown 等(1995)由菸草粉蝨地區分布、寄主選擇、傳播病毒及其交配行為等方面判斷其為一高度特化且具有隱匿姐妹種之複合種；De Barro and Hart (2000)指出煙草粉蝨種群間無法完全相容交配，是導致各生理小種間基因流被限制之主因。另外，Alon 等(2006)也以其研究之 B 與 Q 生理小種對殺蟲劑抗藥性之 RT-PCR 分析結果發現，即便發生在同依地區之兩個菸草粉蝨生理小種，其間之基因流亦是很低或甚至沒有。總之，菸草粉蝨是一高度包含有隱匿種及許多生物小種之異質結構之種群。

## 參考文獻

1. Abdullahi, I., S. Winter, G. I. Atiri, and G. Thottappilly. 2003. Molecular characterization of whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae) populations infesting cassava. Bull. Entomol. Res. 93 : 97-106.
2. Alon, M., J. Benting, B. Lueke, T. Ponge, F. Alon, and S. Morin. 2006. Multiple origins of pyrethroid resistance in sympatric biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae). Insect Biochem. Mol. Biol. 36 : 71-79.
3. Anstead, J.A., Williamson, M.S., Eleftherianos, I.G., Denholm, I. 2004. High-throughput detection of knockdown resistance in *Myzus persicae* using allelic discriminating quantitative PCR. Insect Biochem. Mol. Biol. 34 : 869-875.
4. Barinaga, M. 1993. Is devastating whitefly invader really a new species ? Science 259 : 30.
5. Bird, J. 1957. A whitefly transmitted mosaic of *Jatropha gossypifolia*. Univ. Puerto Rico Agric. Exp. Stn. 22 : 1-35.
6. Brown, J. K., D. Frohlich, and R. Rosell. 1995. The sweetpotato/silverleaf whiteflies : biotypes of *Bemisia tabaci* (Genn.), or a species complex ? Annu. Rev. Entomol. 40 : 511-534.
7. Brown, J. K., T. M. Perring, A. D. Cooper, I. D. Bedford, and P. G. Markham. 2000. Genetic analysis of *Bemisia* population by isoelectric focusing electrophoresis. Biochem. Genet. 38 : 13-25.

8. Costa, A. S. and L. M. Russell. 1975. Failure of *Bemisia tabaci* to breed on cassava plants in Brazil (Homoptera: Aleyrodidae). *Cienc. Cult. Sao Paulo* n27 : 388-390.
9. De Barro, P. J., and P. J. Hart. 2000. Mating interactions between two biotypes of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Australia. *Bull. Entomol. Res.* 90 : 103-112.
10. Ffrench-Constant, R.H., Daborn, P.J., Le Goff, G. 2004. The genetics and genomics of insecticide resistance. *Trends Genet.* 20 : 163-170.
11. Henneberry, T. J., N. C. Toscano and S. J. Castle. 1998. *Bemisia spp.* (Homoptera: Aleyrodidae) in the United States history, pest status, and management. *Recent Res. Devel. Entomol.* 2 : 151-161.
12. Martin, J. H. 1987. An identification guide to common whitefly pest species of the world (Homoptera, Aleyrodidae). *Trop. Pest Manag.* 33 : 298-322.
13. Morin, S., Williamson, M. S., Goodson, S.J., Brown, J.K., Tabashnik, B.E., Dennehy, T.J. 2002. Mutations in the *Bemisia tabaci para* sodium channel gene associated with resistance to a pyrethroid plus organophosphate mixture. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 32 : 1781-1791.
14. Mound, L. A. 1963. Host-correlated variation in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). *Proc. R. Entomol. Soc. Lond. A.* 38 : 171-180.
15. Perring, T. M. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot.* 20 : 725-737.