

國立臺灣大學生物資源暨農學院昆蟲學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Entomology

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

南黃薊馬 (纓翅目：薊馬科) 媒介西瓜銀斑病毒之傳播模式及病
毒對薊馬生活史特徵之影響

Transmission Mode of *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV)
by *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) and Effects of
WSMoV on Life History of Thrips

陳惟德

Wei-Te Chen

指導教授：蔡志偉 博士

Advisor: Chi-Wei Tsai, Ph.D.

中華民國 101 年 7 月

July, 2012

國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

南黃薊馬（纓翅目：薊馬科）媒介西瓜銀斑病毒
之傳播模式及病毒對薊馬生活史特徵之影響

Transmission Mode of *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV) by *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) and Effects of WSMoV on Life History of Thrips

本論文係陳惟德君（R99632005）在國立臺灣大學昆蟲學研究所完成之碩士學位論文，於民國一百零一年七月十日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

蔡志偉

（簽名）

（指導教授）

柯啓成

黃莉欣

洪挺軒

系主任、所長

柯啓成

（簽名）

誌謝

本研究的完成，首要感謝我的家人經濟上的支持，讓我得以衣食無虞的完成我的碩士論文。再來感謝我的指導老師蔡志偉老師，極有耐心指導我，以及提供所有我需要的資源，讓我有極大的進步，且了解自己的極限。並感謝病媒昆蟲學研究室現在及過去全體成員對我的支持。另外感謝黃莉欣博士在論文口試時提出諸多相當中肯及實用的建議以及在我進行實驗時提供部分材料，洪挺軒老師提醒了許多病理方面的專業知識令我受益良多。柯俊成老師提醒了許多關於中文寫作的注意要點與我遺漏掉的南黃薊馬的部分基本背景知識，最後個別感謝許洞慶老師、吳文哲老師、柯俊成老師、張慧羽老師、張俊哲老師、許如君老師、奧山利規老師在我的碩士時光給予我的所有直接的支持或間接的幫助。

以上

學生陳惟德謹誌



中文摘要

南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 除了為葫蘆科作物重要害蟲外，亦傳播多種番茄斑萎病毒屬 (*Tospovirus*) 病毒，例如西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV)。本研究確認南黃薊馬傳播 WSMoV 感染西瓜的傳播機制，研究結果指出南黃薊馬可於一齡幼蟲期、二齡幼蟲期及成蟲期獲得病毒及傳播病毒，但主要還是於一齡幼蟲期獲得病毒，待發育至成蟲期時傳播病毒。使用反轉錄聚合酶連鎖反應 (reverse transcription-polymerase chain reaction) 偵測到表現 WSMoV 非結構蛋白 (nonstructural protein) 之病毒互補 RNA (viral complementary RNA) 之 RT-PCR 產物，確認 WSMoV 在南黃薊馬體內進行複製。綜合以上結果證實南黃薊馬以持續性增殖型 (persistent-propagative) 傳播模式傳播 WSMoV。病毒與薊馬的交互作用方面，健康薊馬與感染 WSMoV 的薊馬之幼蟲存活率及發育速率沒有顯著差異，顯示 WSMoV 對南黃薊馬幼蟲存活率及發育速率沒有直接影響。當感染 WSMoV 薊馬幼蟲取食受 WSMoV 感染的西瓜葉時，其幼蟲存活率與取食健康西瓜者相比並無差別，但發育速率較於取食健康西瓜者高，顯示 WSMoV 會透過寄主植物影響南黃薊馬幼蟲之發育速率。在不同性別薊馬成蟲的取食偏好性實驗中，雌、雄薊馬皆偏好取食遭薊馬取食的西瓜植株，但僅雄薊馬偏好薊馬接種感染 WSMoV 之西瓜植株。這樣的結果顯示，遭薊馬取食及 WSMoV 的感染可增加植株對南黃薊馬的吸引力。本研究闡述南黃薊馬傳播 WSMoV 感染西瓜的傳播機制及病毒與薊馬間交互作用，但有關 WSMoV 與南黃薊馬之間交互作用的細節，仍須進一步研究探討。

關鍵字：番茄斑萎病毒屬病毒、持續性增殖型、存活率、發育速率、取食偏好性

英文摘要

The melon thrips (*Thrips palmi*) is a pest on cucurbit crops but also a vector that transmits tospoviruses, for example *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV). In this study, the transmission mode of WSMoV by *T. palmi* was clarified. The results of transmission assay indicate that first-instar larvae, second-instar larvae and adults of *T. palmi* acquired the virus and transmitted the virus. However, adults had the highest transmission efficiency when they acquired the virus at first-instar stage. Using reverse transcription-polymerase chain reaction, the WSMoV M RNA's complementary RNA of which encodes virus nonstructural protein was detected in virus-infected thrips. These results suggest that *T. palmi* transmits WSMoV in a persistent-propagative manner. Further, the effect of WSMoV infection on survival rate and developmental time of *T. palmi* larvae was examined. The developmental time and survival rate of WSMoV-infected *T. palmi* larvae were not different from those of healthy thrips. When *T. palmi* fed on the WSMoV-infected plants, either healthy thrips or virus-infected thrips grew faster than thrips fed on healthy plants. These results imply that WSMoV did not directly affect *T. palmi*, but WSMoV infection affects the developmental time indirectly through the WSMoV-infected plant. In feeding preference test of *T. palmi* adults, both male and female thrips preferred thrips-damaged plant and more males stayed on WSMoV-infected watermelon seedling, but females did not. These results indicate *T. palmi* is attracted by thrips damage and WSMoV infection. In this study, I not only examined the transmission mode of WSMoV by *Thrips palmi*, but also studied on the interaction between virus and thrips vector. However, the effect of WSMoV infection on *T. palmi* should be studied in details to clarify the actual relationships between them.

Key words: *Tospovirus*, persistent-propagative, survival rate, developmental time, feeding preference



目錄

口試委員審定書	i
誌謝	ii
中文摘要	iii
英文摘要	iv
目錄	vi
圖目錄	viii
表目錄	ix
前言	1
材料與方法	5
1. 南黃薊馬、植物及病毒	5
2. 西瓜銀斑病毒的檢測	7
3. 南黃薊馬傳播西瓜銀斑病毒的傳播模式	8
3.1 非持續性傳播模式	9
3.2 半持續性傳播模式	10
3.3 持續性傳播模式	11
4. 西瓜銀斑病毒於南黃薊馬體內的複製	12
5. 西瓜銀斑病毒對南黃薊馬幼蟲發育速率及存活率影響	13
5.1 直接效應	13
5.2 間接效應	13
6. 南黃薊馬成蟲之取食偏好性	14
7. 統計分析	14
結果	15
1. 南黃薊馬傳播西瓜銀斑病毒的傳播模式	15
1.1 非持續性傳播模式	15

1.2 半持續性傳播模式.....	15
1.3 持續性傳播模式	15
2. 西瓜銀斑病毒於南黃薊馬體內的複製.....	17
3. 西瓜銀斑病毒對南黃薊馬幼蟲發育速率及存活率之影響.....	18
3.1 直接效應	18
3.2 間接效應	19
4. 南黃薊馬成蟲之取食偏好性	24
討論.....	28
1. 番茄斑萎病毒屬病毒的傳播模式.....	28
2. 番茄斑萎病毒屬病毒對薊馬存活率與發育速率之影響	29
3. 南黃薊馬成蟲之取食偏好性	31
4. 結論	33
參考文獻	34



圖目錄

圖一、圓葉煙草 (<i>Nicotiana benthamiana</i>).....	6
圖二、西瓜苗 (<i>Citrullus lanatus</i>).....	7
圖三、西瓜銀斑病毒 (<i>Watermelon silver mottle virus</i> , WSMoV)，於西瓜及南黃薊馬 (<i>Thrips palmi</i>) 體內複製.....	17
圖四、幼蟲存活率 (Kaplan–Meier).....	19
圖五、幼蟲存活率 (Kaplan–Meier).....	21
圖六、南黃薊馬 (<i>Thrips palmi</i>) 幼蟲飼育於西瓜葉至前蛹期的平均發育時間 (平均 ± 標準差)	23
圖七、南黃薊馬 (<i>Thrips palmi</i>) 成蟲對薊馬取食西瓜及健康西瓜植株的取食偏好性	25
圖八、南黃薊馬 (<i>Thrips palmi</i>) 成蟲對薊馬取食西瓜及薊馬接種感染西瓜銀斑病毒 (<i>Watermelon silver mottle virus</i> , WSMoV) 之西瓜植株的取食偏好性	26
圖九、南黃薊馬 (<i>Thrips palmi</i>) 成蟲對薊馬接種感染西瓜銀斑病毒 (<i>Watermelon silver mottle virus</i> , WSMoV) 之西瓜及健康西瓜植株的取食偏好性	27

表目錄

表一、南黃薊馬 (<i>Thrips palmi</i>) 傳播西瓜銀斑病毒 (<i>Watermelon silver mottle virus, WSMoV</i>) 傳播效率.....	16
表二、西瓜銀斑病毒 (<i>Watermelon silver mottle virus</i>) 的感染對南黃薊馬 (<i>Thrips palmi</i>) 於花豆苗上的幼蟲存活率與幼蟲發育至前蛹期時間的直接效應	18
表三、西瓜銀斑病毒 (<i>Watermelon silver mottle virus, WSMoV</i>) 對南黃薊馬 (<i>Thrips palmi</i>) 於西瓜苗上的幼蟲發育至前蛹期時間的間接效應	22



前言

臺灣氣候溫暖適合瓜類作物生長，其中最為重要的莫過於西瓜 (*Citrullus lanatus*) 以及洋香瓜 (*Cucumis melo*) (Peng *et al.*, 2011)。但在瓜類作物的生產過程中，蟲媒植物病毒的感染，常造成產量的嚴重損失，例如：2006 年臺灣台南地區的洋香瓜因受南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 所傳播的西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 感染，造成高達八百萬美元損失 (鄧, 2011; Peng *et al.*, 2011)。在田間，病媒昆蟲以各種不同的傳播模式 (transmission mode) 傳播植物病毒。病媒昆蟲傳播病毒的傳播模式，依據病媒昆蟲的獲毒停留時間 (acquisition access period, AAP)、潛伏期 (latent period) 與可持續傳播植物病毒的時間 (persistent period)，概分成以下三類：(1) 非持續性傳播 (nonpersistent transmission)；(2) 半持續性傳播 (semipersistent transmission)；(3) 持續性傳播 (persistent transmission) (Nault, 1997)。持續性傳播模式又可依病毒是否於病媒體內複製、增殖，細分為持續性循環型 (persistent-circulative) 與持續性增殖型 (persistent-propagative) (Hougenhout *et al.*, 2008)。大多數的蟲媒植物病毒乃依靠半翅目昆蟲 (Hemiptera) 或 纓翅目昆蟲 (Thysanoptera) 傳播 (Hougenhout *et al.*, 2008)。

薊馬屬纓翅目昆蟲，是目前唯一以持續性增殖型傳播模式傳播布尼亞病毒科 (*Bunyaviridae*) 的番茄斑萎病毒屬 (*Tospovirus*) 病毒的病媒昆蟲 (Whitfield *et al.*, 2005)。但是薊馬與其他以持續性傳播模式傳播病毒的病媒昆蟲不同之處在於，薊馬需要於幼蟲期獲得病毒才有機會於成蟲期傳播病毒 (Ulman *et al.*, 1992; van de Wetering *et al.*, 1996)。當薊馬幼蟲取食染病植物的汁液時，會一併攝入番茄斑萎病毒顆粒時，病毒顆粒則會經由前腸 (foregut) 進入中腸 (midgut)，與中腸細胞上的病毒受體進行結合，然後感染中腸腸道微絨毛 (microvillae) 於其細胞內增殖，離開中腸腸道微絨毛細胞後再進入環繞腸道之肌肉細胞，爾後進入血淋巴 (hemolymph) 接著感染其它組織，最後進入唾液腺 (salivary gland)，進而在薊馬唾液腺內進行複製造成唾腺感染 (Ulman *et al.*, 1993)。另有學者指出番茄斑萎病毒在薊馬體內

的感染，主要是經由感染連接中腸與唾液腺的韌帶 (ligament)，造成唾液腺感染，這種路徑遠比經由血淋巴來得快速且有效率 (Nagata *et al.*, 1999)。在病毒感染薊馬唾液腺後，當薊馬成蟲取食健康植株時，注入植物細胞的唾液含有病毒顆粒，接種病毒到健康植物 (Whitfield *et al.*, 2005)。

蟲媒植物病毒要成功地傳播，除了病媒昆蟲本身與病原兩者的交互作用外，病媒－病毒－寄主植物三者之間的交互作用亦扮演不容忽視的角色。已有研究報告指出，不管是昆蟲媒介動物病毒或植物病毒，這些病毒會改變其病媒昆蟲適存值 (fitness) 的例子 (Sisterson, 2009)。以往的研究學者多認為病毒對病媒昆蟲僅有負面影響，包含降低存活率、增長發育時間 (DeAngelis *et al.*, 1993)，但越來越多的研究指出除了負面影響外尚有其他類型的關係，例如正面影響 (Bautista *et al.*, 1995; Maris *et al.*, 2004; Belliure *et al.*, 2005; Stumpf and Kennedy, 2007; Abe *et al.*, 2012) 與無影響 (Wijkamp *et al.*, 1996)。據 Maris *et al.* (2004) 研究發現當健康西方花薊馬 (*Frankliniella occidentalis*) 的幼蟲飼養於感染番茄斑萎病毒 (Tomato spotted wilt virus, TSWV) 植物時，其發育速率顯著高於飼養在健康植物上的幼蟲。至於 TSWV 對其病媒薊馬存活率之影響方面，將西方花薊馬成蟲飼養於健康植物與感染兩種不同分離株 TSWV 之寄主植物。結果發現飼養於感染 TSWV 之 CFL 分離株植物上的薊馬，其幼蟲存活率顯著高於飼養於健康植物者；但飼養於感染 TSWV 之 RG2 分離株植物上的薊馬幼蟲，其存活率與飼養於健康植物者無顯著差異 (Stumpf and Kennedy, 2007)。由此可知 TSWV 分離株的不同，對病媒昆蟲造成的效應亦有所不同。在產卵量方面，據 Wijkamp *et al.* (1996) 以矮牽牛 (*Petunia x hybrida* Hort) 葉片供健康以及感染 TSWV 之西方花薊馬產卵，結果發現其產卵量並無顯著差異。

有關薊馬對不同感染狀況的植物之偏好性，Chaisuekul and Riley (2005) 指出煙草花薊馬 (*F. fusca*) 於遭 TSWV 感染之四瓣馬齒莧 (*Portulaca oleraceae*) 的產卵量顯著多於健康之四瓣馬齒莧，但在感染 TSWV 及健康番茄植株的產卵量並沒有顯著差異。在 Maris *et al.* (2004) 則顯示 *F. occidentalis* 停留

於受 TSWV 感染之甜椒 (*Capsicum annuum*) 的蟲數顯著多於健康甜椒。這顯示病媒薊馬對寄主植物的偏好性會隨病媒薊馬的種類、寄主植物的種類與健康狀況而有所不同。

雖然目前有關薊馬媒介植物病毒的研究很多，但研究最多的模式系統為西方花薊馬與 TSWV，然而在過去研究人員往往直接將其研究結果延伸至其他種類的薊馬及其他薊馬媒介的病毒。可是以薊馬幼蟲存活率為例，前述 Stumpf and Kennedy (2007) 發現以 TSWV 對西方花薊馬幼蟲的存活率的影響來說，就會隨不同病毒分離株而改變，更何況不同的薊馬種類及不同的病毒種類。此外在臺灣西方花薊馬及 TSWV 並不是主要的薊馬-病毒系統，故本研究採用發生於臺灣地區瓜類作物上重要的病媒薊馬-南黃薊馬及其傳播重要病毒-WSMoV 為研究對象。南黃薊馬廣泛分布於世界各地，包括歐洲、亞洲、非洲、北美洲、南美洲、大洋洲地區 (Bhatti, 1998; Cannon *et al.*, 2007)，其寄主植物範圍相當廣泛，可為害多種蔬菜、瓜果類及花卉 (黃及陳, 2004)。南黃薊馬可傳播超過 4 種以上的 *Tospovirus* 屬的病毒，包含：彩色海芋黃化斑點病毒 (*Calla lily chlorotic spot virus*)、番椒黃化病毒 (*Capsicum chlorosis virus*)、洋香瓜黃斑病毒 (*Melon yellow spot virus*)、花生頂芽壞疽病毒 (*Groundnut bud necrosis virus*)、西瓜頂芽壞疽病毒 (*Watermelon bud necrosis virus*)，重要的是此薊馬乃 WSMoV 唯一的蟲媒薊馬種類 (Yeh *et al.*, 1992; Pappu *et al.*, 2009)。病毒方面，WSMoV 為臺灣地區第一種被發現的 *Tospovirus* 屬的病毒，主要感染西瓜與洋香瓜等多種葫蘆科 (Cucurbitaceae) 作物，如果瓜類作物感染 WSMoV 將對產量造成重大損失 (Yeh *et al.*, 1992; 陳等 2004)。

近年來有關南黃薊馬及 WSMoV 的研究，大多著重南黃薊馬的生物學或 WSMoV 的病毒學研究。媒介昆蟲方面，多針對南黃薊馬的生殖與發育進行探討 (黃及蘇, 1997; 黃及陳, 2004); 病毒方面，則偏重於 WSMoV 本身性質研究，如對其 L RNA、M RNA、S RNA 進行解序比較、研究 WSMoV 基因表現與病毒血清群 (serogroup) 研究

(Yeh *et al.*, 1996; Chu and Yeh, 1998; Chu *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2010; Okuda *et al.*, 2003)。在南黃薊馬傳播 WSMoV 生物學方面，分別有陳等 (2004) 就 WSMoV 於田間的發生生態以及雜草寄主進行報告。另外 Chen *et al.* (2006) 亦報導南黃薊馬可能可以非持續性或持續性兩種傳播模式傳播 WSMoV。除了以上列舉的報告外，尚無關於 WSMoV 及南黃薊馬之間的交互作用報導。因此，確定南黃薊馬傳播 WSMoV 傳播模式與瞭解有關 WSMoV 及南黃薊馬之間交互作用有其必要性。

本研究目的有二：(1) 南黃薊馬傳播 WSMoV 的傳播生態學，包含南黃薊馬傳播病毒機制的再確認、不同發育階段與性別對薊馬傳播病毒效率之影響；(2) 深入研究病毒與病媒的交互作用，探討 WSMoV 的感染對南黃薊馬幼蟲存活率、發育速率及薊馬成蟲取食偏好性的影響。



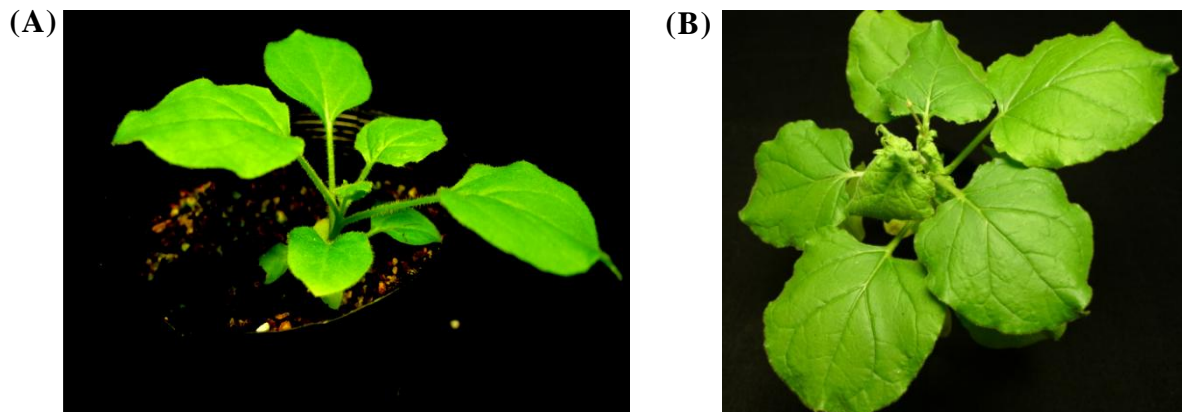
材料與方法

1. 南黃薊馬、植物及病毒

南黃薊馬蟲源採集於自國立臺灣大學實驗農場的茄子 (*Solanum melongena*) 葉上，經形態及分子檢測確認 (EPPO/CABI, 1997; 王, 2002)。南黃薊馬的 stock population 採用發芽 4 日的花豆苗 (*Phaseolus coccineus*) 飼養，將連同花盆的豆苗置入直徑 7.5 公分，高 16 公分，底部鋪有珍珠石的玻璃罐中，且罐口罩上每平方公分 250 網目的細紗網，於生長箱飼養 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 16L:8D)，爾後每 3 日更換一次新的花豆苗供薊馬取食。為獲得相同齡期之供試南黃薊馬，收集 400-500 隻南黃薊馬成蟲飼養於小黃瓜 (*Cucumis sativus*) 上並提供花粉以促進其產卵。小黃瓜放置於底部鋪有擦手紙的 2 公升燒杯中，且杯口罩上每平方公分 250 網目的細紗網，5 日後，挑取孵化 4 小時內初生的一齡薊馬幼蟲供實驗用。

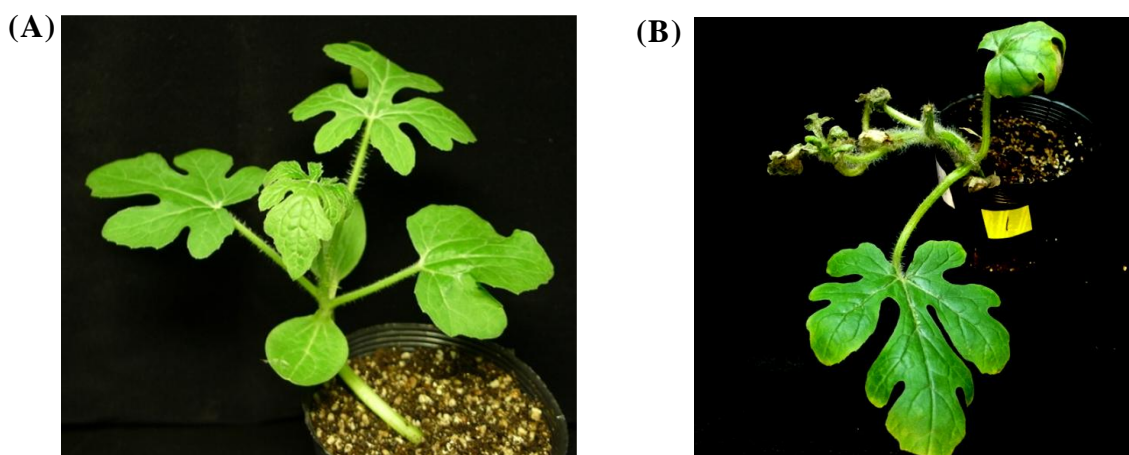
本實驗採用的 WSMoV 台南分離株 (isolate) 係由台南農業改良場彭瑞菊助理研究員提供；採用西瓜苗 (*C. lanatus* 'Fine light') 維持實驗用 WSMoV，種植於生長箱 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 16L:8D)。實驗前將台南農業改良場提供感染 WSMoV 的洋香瓜病葉以機械接種方式接種於圓葉菸草 (*Nicotiana benthamiana*)，再將確認感染 WSMoV 的菸草作為機械接種的病源接種至僅具一片真葉的西瓜苗子葉上。機械接種方法概述如下：將欲接種的菸草葉面灑布金剛砂 (carborundum powder, 500 mesh)，取感染 WSMoV 之植物葉片 1g 加於裝有少量矽藻土 (celite) 及 10 ml 冰冷接種緩衝液 (0.01 M phosphate buffer, pH 7.0, 1% Na_2SO_3) 之冰冷研鉢中研磨後，將感染 WSMoV 的植物研磨液沾於衛生紙塗抹於接種葉面上，待 1 分鐘後以蒸餾水沖洗乾淨。為確保 WSMoV 不因多次機械接種失去可被薊馬傳播的能力，WSMoV 平時以南黃薊馬接種維持於西瓜苗上。待要實驗時，為獲得沒有遭到薊馬取食損害的供試病源植物，先以上述的機械接種方法將 WSMoV 自西瓜接種至圓葉菸草上，待圓葉菸草產生病徵時 (圖一B)，再將 WSMoV 自圓葉菸草以前述機械接種方式接種至僅具一片真葉之西瓜苗，並給予 2 週時間發展病勢，2 週後以病毒專一性引子對進行反轉錄聚合酶連鎖反應 (Reverse

transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 檢測西瓜苗是否受 WSMoV 感染 (圖二B)，以確定成功接種病毒。



圖一、(A) 健康圓葉煙草 (*Nicotiana benthamiana*)。 (B) 感染西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 之圓葉菸草。當圓葉煙草感染 WSMoV 時病徵為新葉捲曲皺縮。

Fig. 1. (A) Healthy tobacco (*Nicotiana benthamiana*). (B) The symptoms of *Watermelon silver mottle virus*-infected tobacco seedling are crinkling and curling of new foliors.



圖二、(A) 健康西瓜苗 (*Citrullus lanatus*)。 (B) 感染西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 之西瓜苗。當西瓜苗感染 WSMoV 時病徵為新葉明顯黃化、皺縮叢生、直立、呈壞疽與焦枝現象。

Fig. 2. (A) Healthy watermelon (*Citrullus lanatus*). (B) The symptoms of *Watermelon silver mottle virus*-infected watermelon seedling are leaf mottling, crinkling, upright growth of younger branch, tip necrosis and dieback.

2. 西瓜銀斑病毒的檢測

所有的病源植物 (source plant) 均以 RT-PCR 檢測確認 WSMoV 的感染。RT-PCR 使用專一性引子對 WSMoV848 (5'-ATCACCATCATCCACA G-3') 與 WSMoVR (5'-GAGGAGAGAGCAATC GAGG C-3'), 乃修改自 Uga and Tsuda (2005), 依據 WSMoV 之 S RNA 上的鞘蛋白基因 (Nucleocapsid protein gene) 及 3' 非編碼區 (3'untranslated region) 設計。此引子對將增幅出大小約為 800 bp 的核酸產物。以 TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA) 抽取供試植物的 total RNA, 取 0.01 g 供試植物葉片, 於 100 μ l TRIzol 與液態氮一起研磨, 其餘的相分離 (phase separation) 及 RNA 沉澱流程, 均遵照操作手冊操作。Total RNA 抽取完成後, 遵照 One step RT-PCR kit (Qiagen,

Valencia, CA) 操作流程，反應總體積為 10 μ l。將 1 μ l 植物 total RNA，分別各加入 0.6 μ l 之 WSMoV848 與 WSMoVR 引子對、2 μ l 之 5X RT-PCR buffer、0.4 μ l 之 10 mM dNTP 與 0.4 μ l 之 Enzyme Mix，其餘體積以 DEPC 水補滿。並於 PCR 熱循環反應儀中 (PCR thermal cycler) 進行反轉錄及 40 個 PCR 循環反應。RT-PCR 的反應條件如下：於 50°C 30 分鐘的條件下合成 cDNA，之後再於 95°C 進行變性 (denature) 反應 15 分鐘，再進行 40 個 PCR 循環反應，每一個循環反應之程序為 94°C 變性反應 30 秒，50°C 黏合反應 (annealing) 30 秒，72°C 聚合反應 (elongation) 1 分鐘，最後再於 72°C 進行延長 (extension) 聚合反應 10 分鐘反應結果以 1% 瓊脂膠體 (agarose) 電泳進行分析，預期增幅出核酸產物的大小約為 800 bp。

南黃薊馬傳播 WSMoV 傳播模式實驗中，供試植物 WSMoV 感染檢測部分，採用 total RNA 粗萃取進行 RT-PCR。在實驗前進行前測試確認 total RNA 粗萃取進行 RT-PCR 與 TRIzol 抽取 total RNA 進行 RT-PCR 檢測效率完全相同。total RNA 粗萃取方法敘述如下：將待測葉片以 1:20 (w/v) 於 ELISA grinding buffer (1.59 g/l Na₂CO₃, 2.93 g/l NaHCO₃, pH 9.6, 2% PVP-40, 0.2% bovine serum albumin, 0.05% Tween 20 及 1% Na₂S₂O₅) 研磨。取 2 μ l 研磨液加入 25 μ l GES denaturing buffer 中 (0.1 M glycine, 0.05 M NaCl, 1 mM EDTA 及 0.5% Triton X-100)。於 95°C 加熱 10 分鐘後，迅速降溫至 4°C 維持 10 分鐘。將 1 μ l 前述 GES 均質液 (homogenate) 作為 RT-PCR 的 RNA 模板，進行 RT-PCR。其餘 RT-PCR 操作流程皆同前述。

3. 南黃薊馬傳播西瓜銀斑病毒的傳播模式

為確認南黃薊馬以何種傳播模式傳播 WSMoV，以及南黃薊馬獲得病毒齡期對病毒傳播效率的影響。將指定齡期的薊馬幼蟲 (孵化時間小於 4 小時之一齡幼蟲、蛻皮小於 4 小時之二齡幼蟲) 或成蟲 (48 小時內羽化) 以沾水的水彩筆挑取，置於經 RT-PCR 檢測確認感染 WSMoV 的西瓜葉片

上，分別給予指定的 AAP，待指定 AAP 到達時將薊馬轉移至僅具一片真葉之西瓜植株上進行接種停留時間 (inoculation access period, IAP)。在持續性傳播模式測試中，指定 AAP 結束後，則會先將薊馬轉移至花豆葉上給予指定的潛伏期，待潛伏期過後將薊馬轉移至供試西瓜植株進行 IAP。傳播模式確認實驗中，每株實驗植株上進行 IAP 的薊馬蟲數，除了持續性傳播模式一齡幼蟲獲毒成蟲傳毒的部分，為了區分不同性別薊馬傳播 WSMoV 之傳播效率，每株供試植物各接種 1 隻薊馬成蟲外；其餘傳播模式測試為了提高接種病毒感染的成功率，每株供試植物各接種 5 隻薊馬。在指定的 IAP 結束後，噴灑稀釋 1000 倍之 20% 亞滅培 (Acetamiprid) 以除去供試植物上的薊馬，並將供試植株移入生長箱待其病勢發展。供試植株移入生長箱 2 週後，以前述粗萃取方法抽取供試植物葉片的 total RNA，以 RT-PCR 檢測是否有 WSMoV 感染，並計算南黃薊馬傳播 WSMoV 之傳播效率。此外，在傳播模式測試中作為獲毒來源的染病西瓜葉片在薊馬 AAP 結束後，為確認薊馬獲毒來源確實有 WSMoV 的感染，所有葉片均以 TRIzol 抽取其 total RNA，再以 RT-PCR 進行病毒感染檢測。每種傳播模式測試，各有 3 組實驗組，每組均有 10 株供試植物。所有傳播模式確認實驗都有進行生長箱負對照組試驗。生長箱負對照組試驗內容如下：隨機選取與傳播實驗相同批次且未被薊馬取食過僅具一片真葉的健康西瓜苗 5 株，與薊馬接種後之供試植物一同放置於生長箱內 2 週。在生長箱負對照組試驗中並沒有西瓜植株被檢測出有 WSMoV 感染。詳細的各傳播模式的試驗條件，敘述如下：

3.1 非持續性傳播模式

3.1.1 一齡幼蟲獲毒及傳毒

將薊馬一齡幼蟲置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉片上 15 分鐘 (AAP)，然後將可能帶毒的薊馬每 5 隻轉移至僅具一片真葉的健康西瓜苗上進行接種 2 小時 (IAP)。

3.1.2 二齡幼蟲獲毒及傳毒

將薊馬二齡幼蟲經 1 小時飢餓期後，置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉片上 15 分鐘 (AAP)，然後將可能獲毒的薊馬每 5 隻轉移至僅具一片真葉之健康西瓜苗上，進行接種 2 小時 (IAP)。

3.1.3 成蟲獲毒及傳毒

將薊馬成蟲經 1 小時飢餓期後，置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉片上 15 分鐘 (AAP)，然後將可能獲毒的薊馬每 5 隻轉移至僅具一片真葉之健康西瓜苗上進行接種 2 小時 (IAP)。

3.2 半持續性傳播模式

3.2.1 一齡幼蟲獲毒及傳毒

將薊馬一齡幼蟲，放置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉片上 2 小時 (AAP)，其後將可能獲毒的薊馬每 5 隻轉移至僅具一片真葉之健康西瓜苗上進行接種 24 小時 (IAP)。

3.2.2 二齡幼蟲獲毒及傳毒

將薊馬二齡幼蟲，放置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉片上 2 小時 (AAP)，其後將可能獲毒的薊馬每 5 隻轉移至僅具一片真葉之健康西瓜苗上，進行接種 24 小時 (IAP)。

3.2.3 成蟲獲毒及傳毒

將薊馬成蟲，放置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉片上 2 小時 (AAP)，其後將可能獲毒的薊馬每 5 隻轉移至僅具一片真葉之健康西瓜苗上，進行接種 48 小時 (IAP)。

3.3 持續性傳播模式

持續性增殖型傳播模式測試，依照薊馬獲毒齡期不同，分為一齡幼蟲獲毒、二齡幼蟲獲毒與成蟲獲毒。當薊馬於確認感染 WSMoV 的西瓜葉片結束 AAP 後，將薊馬轉移至花豆葉上給予適當潛伏期，待潛伏期後將薊馬幼蟲再轉移至僅具一片真葉之西瓜苗進行 IAP。其中，薊馬一齡幼蟲獲毒部分又可依傳毒齡期不同分為二齡幼蟲傳毒及成蟲期傳毒。以下為詳細流程：

3.3.1 一齡幼蟲獲毒、成蟲傳毒

將薊馬一齡幼蟲置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉片上取食 48 小時 (AAP)，然後將可能獲得病毒的薊馬幼蟲轉移至置有 (1.5 X 1.5 cm²) 非 WSMoV 寄主植物花豆葉 (leaf disk) 之玻璃瓶直徑 1.5 公分 高 4.5 公分 中飼養，並以二層石蠟膜 (parafilm) 封住瓶口。飼養至成蟲期後，將可能帶毒的薊馬成蟲單隻轉移至僅具有一片真葉之健康西瓜苗接種 48 小時 (IAP)。為比較不同性別薊馬傳播 WSMoV 效率，每組 10 株植株，每株植株各放置 1 隻薊馬成蟲進行 IAP。

3.3.2 一齡幼蟲獲毒、二齡幼蟲傳毒

將薊馬一齡幼蟲置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉上給予 48 小時 (AAP) 後，將其以花豆葉飼養至二齡幼蟲。將可能帶毒二齡幼蟲，每 5 隻轉移置於僅具一片真葉之健康西瓜苗上給予 24 小時的取食時間 (IAP)。

3.3.3 二齡幼蟲獲毒、成蟲傳毒

將薊馬二齡幼蟲置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉上取食 48 小時 (AAP) 後。以前述的方法飼養至成蟲，當成蟲羽化後，再將可能帶毒成蟲每 5 隻轉移至僅具一片真葉之健康西瓜苗上給予 48 小時的取食時間 (IAP)。

3.3.4 成蟲獲毒、成蟲傳毒

將薊馬成蟲置於確認感染 WSMoV 的西瓜葉片上取食 48 小時 (AAP)，然後轉移可能獲毒薊馬，每 5 隻轉移至僅具一片真葉之健康西瓜苗上給予 48 小時的取食時間 (IAP)。

4. 西瓜銀斑病毒於南黃薊馬體內的複製

將經前述 RT-PCR 檢測確認感染 WSMoV 的薊馬之 total RNA，以針對 WSMoV M RNA 之 viral complementary RNA (vc RNA) 設計之引子 NSmR (5'-GCTGTGTAGCTGAGCGCAA-3') 進行反轉錄產生 cDNA 後，再以引子對 NSmF (5'-AATTTTAGTGATCATGGCTGTG-3') 及 NSmR 對反轉錄產生之 cDNA 進行 PCR 增幅，以確認 WSMoV 是否於病媒薊馬體內進行複製。薊馬的 total RNA 以 TRIzol 抽取，取 1 隻薊馬，於 100 μ l TRIzol 與液態氮研磨，其餘操作程序同上述。所抽取出的薊馬 total RNA 以 ReverTra Ace (TOYOBO, Osaka, Japan) 進行反轉錄。反轉錄反應總體積為 20 μ l，加入 1 μ l 之薊馬 total RNA、4 μ l 之 5X Reaction buffer 及 1 μ l 之引子 NSmR、0.25 μ l 之 RNase inhibitor、2 μ l 之 10 mM dNTP、1 μ l 之 ReverTra Ace，其餘體積以 DEPC 水補滿，於 PCR 熱循環反應儀進行反轉錄，反轉錄條件如下，42°C 20 分鐘，99°C 5 分鐘，4°C 5 分鐘。將前述的 cDNA 以 2X PCR Mastermix RED (Biomax, Taipei, Taiwan) 進行 PCR 增幅，PCR 反應總體積為 20 μ l，加入 2 μ l 之 cDNA，10 μ l 之 2X Mastermix Red，各 1.2 μ l 引子對 NSmF 及 NSmR，其餘體積以無菌雙蒸水補滿，反應條件如下，於 95°C 變性反應 2 分鐘，再進行 35 個 PCR 循環反應，每一個循環反應之程序為 95°C 變性反應 30 秒，55°C 黏合反應 30 秒，72°C 聚合反應 1 分鐘，最後再於 72°C 進行延長聚合反應 10 分鐘，反應結果以 1% 瓊脂膠體電泳進行分析，預期增幅出的 WSMoV M RNA 之 vc RNA 的 RT-PCR 產物大小約為 275 bp。

5. 西瓜銀斑病毒對南黃薊馬幼蟲發育速率及存活率影響

為了檢驗 WSMoV 對南黃薊馬幼蟲的發育速率及存活率影響，分別使用健康薊馬幼蟲及感染 WSMoV 薊馬幼蟲進行試驗。感染 WSMoV 薊馬幼蟲部分，將孵化 4 小時內的薊馬幼蟲，放置於 RT-PCR 檢測確認感染 WSMoV 西瓜葉片上給予 24 小時的 AAP。AAP 結束後將前述可能帶毒的薊馬幼蟲（帶毒率 90%）單隻飼養於內置有 $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 之花豆葉片或西瓜葉片培養皿（直徑 3.5 cm），以石蠟膜密封。每 12 小時記錄薊馬幼蟲發育階段，直到前蛹期（prepupa stage）。最後統計幼蟲發育速率及存活率。花豆或西瓜葉片視葉片情況，每 24~48 小時更換一次。每次實驗蟲數介於 30~40 隻不等。健康薊馬部分，除了前 24 小時 AAP 取食葉片為健康西瓜葉片外，其餘處理均與感染 WSMoV 的薊馬相同。

5.1 直接效應

為調查 WSMoV 的感染對南黃薊馬幼蟲發育速率及幼蟲存活率影響的直接影響，採用不會被 WSMoV 感染之非寄主植物花豆，做為薊馬一齡幼蟲到前蛹期食物。分別比較感染 WSMoV 的薊馬幼蟲與未受 WSMoV 感染的薊馬幼蟲於花豆葉上之發育速率及存活率。

5.2 間接效應

為研究薊馬取食感染 WSMoV 的植物對薊馬生存及發育所受的影響，分別讓健康薊馬取食健康西瓜葉片、經薊馬取食的西瓜葉片與經薊馬接種感染 WSMoV 的西瓜葉片；感染 WSMoV 的薊馬幼蟲取食健康西瓜葉片、經薊馬取食的西瓜葉片與經薊馬接種感染 WSMoV 的西瓜葉片。觀察記錄健康薊馬及感染 WSMoV 的薊馬自一齡幼蟲至前蛹期之發育時間及存活率。

6. 南黃薊馬成蟲之取食偏好性

設置 1 個 30 x 30 x 30 cm³ 壓克力箱，內置入兩株不同實驗組合條件植物（健康植株與薊馬接種感染 WSMoV 之植株、健康植株與經薊馬取食植株、經薊馬取食植株與薊馬接種感染 WSMoV 之植株），並將內有同樣性別 10 隻薊馬成蟲的離心管（eppendorf）放置於 2 植株中央；植株與植株、各植株與離心管之間隔均為 30 公分。待放置 2 小時、4 小時、8 小時、12 小時及 24 小時，後分別計算於各植株上之薊馬數量。本實驗每個實驗處理均進行 3 次重覆，另外雌薊馬與雄薊馬都分別進行測試，以檢測薊馬成蟲取食偏好性之性別差異。

7. 統計分析

南黃薊馬傳播 WSMoV 之傳播模式檢測部分，單隻薊馬傳播 WSMoV 之傳播效率計算乃根據以下 Swallow (1985) 的群組傳播效率計算公式計算，其中 N 為供試植物總數，R 為沒有感染成功的植物數，k 為每株供試植物接種的薊馬數： $P_s = 1 - \{R/N\}^{1/k}$ 。在持續性傳播測試一齡幼蟲獲毒、成蟲傳毒的實驗中，其單隻薊馬成蟲傳播病毒的效率為感染植物總數/供試總植物數。不同性別成蟲傳播效率的比較以邏輯迴歸 (logistic regression) 進行分析。在 WSMoV 對薊馬幼蟲的存活率直接、間接的影響，本研究採用 Kaplan-Meier 法及存活分析 (survival analysis) 檢驗薊馬幼蟲存活率 (cumulative survival rate) 或存活至前蛹期的總蟲數。利用對數等級檢定 (log rank test) 檢視兩處理之間是否具有顯著差異。WSMoV 對薊馬幼蟲發育時間的直接及間接效應以負二項分布 (negative binomial distribution) 進行比較。薊馬成蟲對薊馬接種感染 WSMoV 植物、經薊馬取食植物與健康植物取食偏好性測試，每個時間點兩植株上薊馬蟲數比較利用，以二項分佈 (binomial distribution) 為基礎之符號檢定 (sign test) 進行檢定。以上所有的統計運算均由軟體 R (ver. 2.12.0) 執行。

結果

1. 南黃薊馬傳播西瓜銀斑病毒的傳播模式

1.1 非持續性傳播模式

南黃薊馬無法在 15 分鐘 AAP 與 2 小時 IAP 的情況下傳播 WSMoV。在本實驗中一齡幼蟲獲毒及傳毒、二齡幼蟲獲毒及傳毒、成蟲獲毒及傳毒，單隻薊馬傳播 WSMoV 的效率皆為 0% (表一)。

1.2 半持續性傳播模式

南黃薊馬雖然可以在 2 小時 AAP 與 24 小時 IAP 的情況下傳播 WSMoV，但是傳播機率非常低。在本實驗中一齡幼蟲獲毒及傳毒、二齡幼蟲獲毒及傳毒、成蟲獲毒及傳毒，5 隻薊馬傳播 WSMoV 的效率分別為 3%、6%、0% (表一)，一齡與二齡幼蟲的傳播效率並沒有顯著差異 ($z = -0.55$, d. f. = 1, $P = 0.57$)。

1.3 持續性傳播模式

南黃薊馬主要以持續性傳播模式傳播 WSMoV，其中以一齡幼蟲獲毒成蟲傳毒的傳播效率最高。本實驗中一齡幼蟲及二齡幼蟲獲毒，且於羽化為成蟲後傳播病毒，單隻薊馬的傳播效率分別為 76% 及 0.6% (表一)。一齡幼蟲獲毒二齡幼蟲傳毒部分，單隻薊馬的傳播效率為 0.6% (表一)。成蟲獲毒及傳毒部分，單隻薊馬的傳播效率為 1.2% (表一)。雌成蟲與雄成蟲傳播 WSMoV 的傳播效率，分別為 71% 及 81%，兩者間無顯著差異 ($z = -0.23$, d. f. = 1, $P = 0.81$)。

表一、南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 傳播西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 之傳播效率

Table 1. Transmission efficiency of *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV) by *Thrips palmi*

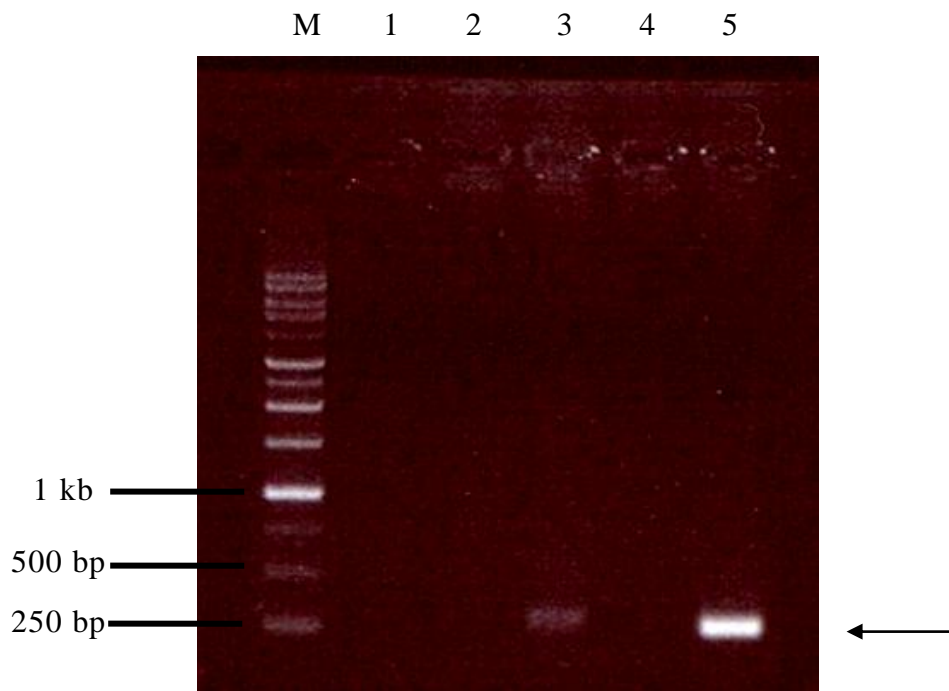
Transmission mode	Acquired instar	Inoculated instar	Transmission efficiency ^a	Ps ^b
Nonpersistent				
transmission	First-instar larvae	First-instar larvae	0%	0%
	Second-instar larvae	Second-instar larvae	0%	0%
	Adults	Adults	0%	0%
Semipersistent				
transmission	First-instar larvae	First-instar larvae	3%	0.6%
	Second-instar larvae	Second-instar larvae	6%	1.2%
	Adults	Adults	0%	0%
Persistent				
transmission	First-instar larvae	Second-instar larvae	3%	0.6%
	Second-instar larvae	Adults	76%	76%
	Second-instar larvae	Adults	3%	0.6%
	Adults	Adults	6%	1.2%

^a Transmission efficiency calculated as the number of WSMoV-infected plants/ the number of test plants.

^b The maximum likelihood estimator of transmission probability for replicates with five thrips per plant was counted according to Swallow (1985).

2. 西瓜銀斑病毒於南黃薊馬體內的複製

不管是感染 WSMoV 的西瓜或感染 WSMoV 的南黃薊馬，其 total RNA 經 2-step RT-PCR 之後產出 WSMoV M RNA 之 vc RNA 的 RT-PCR 產物 (圖三)，並經由定序確認。結果顯示 WSMoV 確實於南黃薊馬體內進行複製。



圖三、西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV)，於西瓜及南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 體內複製。將 total RNA 以引子 NSmR 進行反轉錄 (reverse transcription) 成 cDNA 後，再以引子對 NSmF 及 NSmR 進行聚合酶連鎖反應。M: marker; negative control (lane 1); 健康西瓜 (lane 2); 感染 WSMoV 的西瓜 (lane 3); 健康薊馬 (lane 4); 感染 WSMoV 的薊馬 (lane 5)。箭頭指出 WSMoV M RNA 之 vc RNA 的 RT-PCR 產物，大小為 275bp。

Fig. 3. The replication of *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV) in *Citrullus lanatus* and *Thrips palmi*. Total RNA was reverse transcribed to cDNA by using the primer NSmR, and then the polymerase chain reaction was performed by using the cDNA and the primers NSmF and NSmR. M: marker; negative control (lane 1); healthy watermelon (lane 2); WSMoV-infected watermelon (lane 3); healthy thrips (lane 4); WSMoV-infected thrips (lane 5). The arrow indicated the RT-PCR product (275bp) of WSMoV M RNA vc RNA.

3. 西瓜銀斑病毒對南黃薊馬幼蟲發育速率及存活率之影響

3.1 直接效應

比較健康及感染 WSMoV 的南黃薊馬飼養於花豆上的存活率 (圖四), 兩者間並無顯著差異 ($\chi^2 = 2.84$, d. f. = 1, $P = 0.09$)。健康薊馬與感染 WSMoV 的薊馬於花豆上發育至前蛹期的時間分別為 119.4 ± 31.6 小時及 122.9 ± 18.4 小時, 兩者間無顯著差異 (表二, Log-likelihood: -339.09, $P = 0.73$)。以上結果顯示 WSMoV 的感染對薊馬幼蟲的存活率及發育至前蛹期的時間無直接影響。

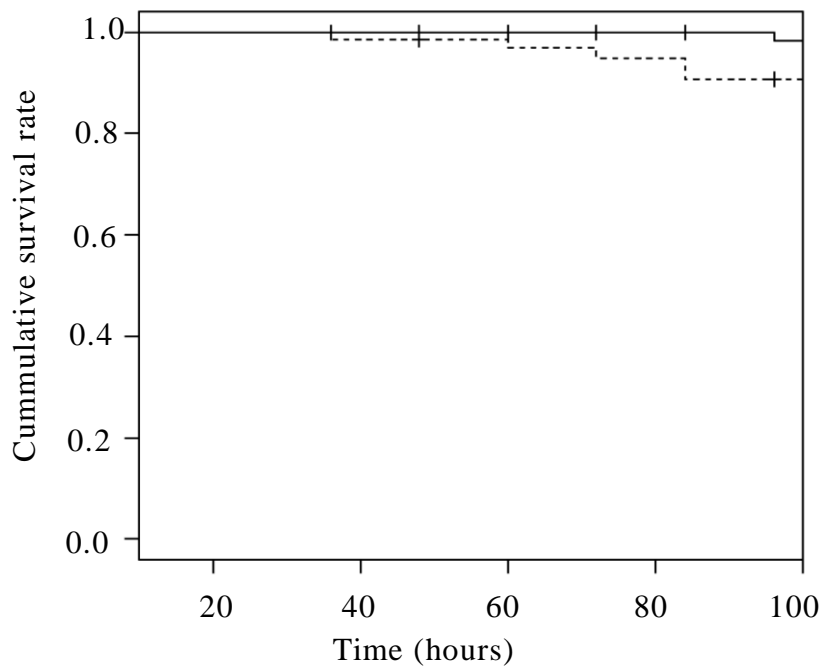
表二、西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*) 的感染對南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 於花豆苗上的幼蟲存活率與幼蟲發育至前蛹期時間的直接效應

Table 2. Direct effects of *Watermelon silver mottle virus* infection on larval survival rate and developmental time from newly larvae hatched to prepupae of *Thrips palmi* on kidney bean seedlings

	Test statistic	P-value
Survival rate	2.81 ^a	0.09
Developmental time	-339.09 ^b	0.73

^a The log-rank test was used for planned comparison. d. f. = 1.

^b The negative binomial distribution was used for planned comparison.



圖四、幼蟲存活率 (Kaplan–Meier)。健康南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 幼蟲飼育於花豆苗上的存活率 (n = 65, 黑線) 與感染西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*) 的南黃薊馬幼蟲於花豆苗上存活率 (n = 70, 虛線)。

Fig. 4. Cumulative survival rate of *Thrips palmi* larvae (Kaplan–Meier). Healthy thrips larvae were raised on kidney bean seedlings (n=65, drawn line). *Watermelon silver mottle virus*-infected thrips larvae were raised on kidney bean seedlings (n=70, dashed line).

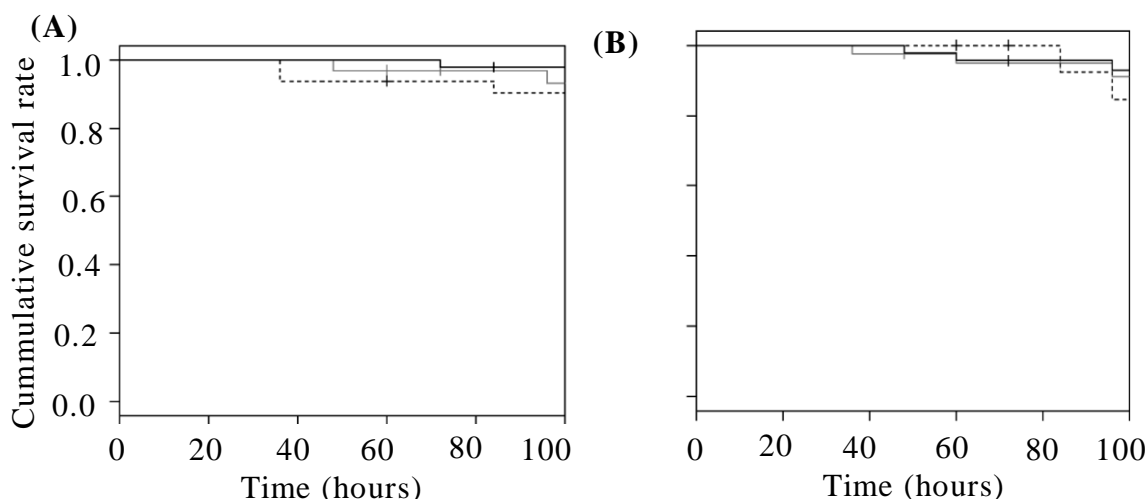
3.2 間接效應

健康南黃薊馬幼蟲飼育於健康植株、經薊馬取食植株及薊馬接種感染 WSMoV 的植株之幼蟲存活率，三者之間沒有顯著差異 (表二、圖五A, $\chi^2 = 4.6$, d. f. = 2, $P = 0.31$)。結果顯示薊馬取食與 WSMoV 並不會透過薊馬的寄主植物間接影響薊馬的存活率。發育至前蛹期時間方面，健康南黃薊馬幼蟲於健康植株及薊馬取食植株發育時間有顯著差異 (表三、圖六, Log-likelihood: -235.10, $P < 0.05$)；但健康南黃薊馬幼蟲於薊馬接種感染 WSMoV 之植株與經薊馬取食之植株的發育時間，沒有顯著差異 (Log-likelihood: -163.44, $P = 0.52$)；健康南黃薊馬幼蟲於健康植株與薊馬接種感染 WSMoV 的植株發育

時間亦無顯著差異 (Log-likelihood: -220.80, $P = 0.53$)。結果顯示 WSMoV 並不會透過薊馬的寄主植物間接影響，薊馬的存活率與發育時間。

感染 WSMoV 之南黃薊馬幼蟲於健康植株、經薊馬取食植株及薊馬接種感染 WSMoV 的植株之存活率，三者之間沒有顯著差異 (圖五B, $\chi^2 = 3.5$, d. f. = 2, $P = 0.17$)。經薊馬取食與 WSMoV 對感染 WSMoV 之薊馬的存活率沒有間接效應，此結果與健康薊馬的結果相同。





圖五、幼蟲存活率 (Kaplan–Meier)。(A) 健康南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 幼蟲飼育於健康西瓜苗上的存活率 (n = 47, 黑線), 於薊馬取食西瓜苗上的存活率 (n = 32, 虛線), 於薊馬接種感染西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 西瓜苗上的存活率 (n = 32, 灰線)。(B) 感染 WSMoV 之南黃薊馬幼蟲飼育於健康西瓜苗上的存活率 (n = 46, 黑線), 於薊馬取食西瓜苗上的存活率 (n = 26, 虛線), 於薊馬接種感染 WSMoV 西瓜苗上的存活率 (n = 40, 灰線)。

Fig. 5. Cumulative survival rate of *Thrips palmi* larvae (Kaplan–Meier). (A) Healthy thrips larvae were raised on healthy watermelon seedlings (n=47, drawn line), on thrips-damaged watermelon seedlings (n=32, dashed line) and on thrips-inoculated watermelon seedlings (n=32, grey line). (B) *Watermelon silver mottle virus*-infected thrips larvae were raised on healthy watermelon seedlings (n=46, drawn line), on thrips-damaged watermelon seedlings (n=26, dashed line) and on thrips-inoculated watermelon seedlings (n=40, grey line).

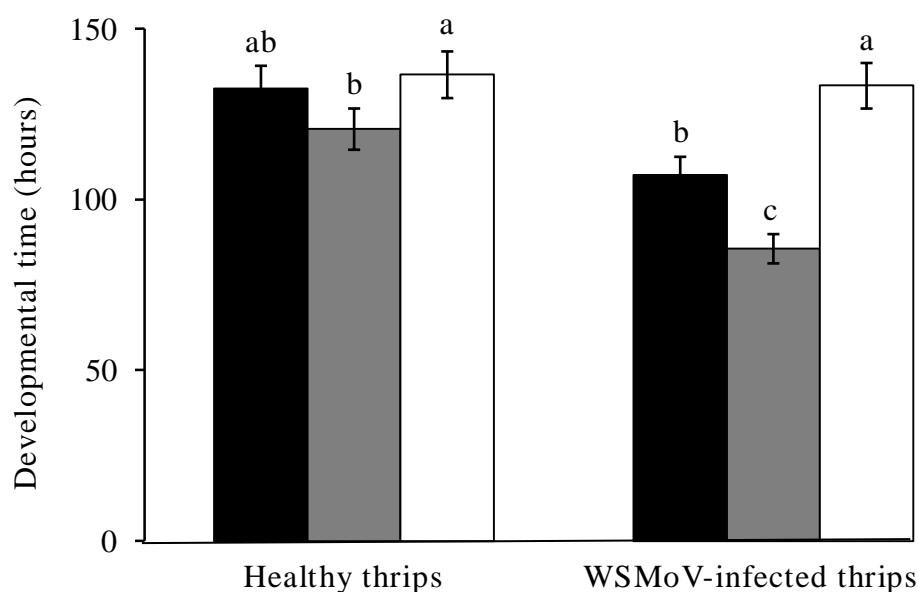
發育至前蛹期時間方面，感染 WSMoV 的薊馬幼蟲於健康植株與薊馬取食植株之發育速率有顯著差異 (表三、圖六，log-likelihood: 193.58, $P < 0.01$)；感染 WSMoV 的薊馬幼蟲於薊馬接種感染 WSMoV 的植株及健康植株之發育速率有顯著差異 (log-likelihood: -266.85, $P < 0.01$)；感染 WSMoV 的薊馬幼蟲於薊馬接種感染 WSMoV 的植株及經薊馬取食植株之發育速率有顯著差異 (log-likelihood: -193.58, $P < 0.01$)。感染 WSMoV 的薊馬幼蟲於健康植株上發育至前蛹期的時間最長，其次為於薊馬接種感染 WSMoV 者，最短者為於經薊馬取食植株發育者。結果顯示不論薊馬有無感染 WSMoV，當薊馬幼蟲飼育於經薊馬取食的植株上會縮短薊馬幼蟲發育至前蛹的發育時間，但 WSMoV 的感染會減弱薊馬取食植株造成的影響。

表三、西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 對南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 於西瓜苗上的幼蟲發育至前蛹期時間的間接效應

Table 3. Indirect effects of *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV) on larva developmental time from newly hatched to prepupa of *Thrips palmi* on watermelon seedlings

Comparision	Healthy larvae		WSMoV-infected larvae	
	Test statistic ^a	<i>P</i>	Test statistic ^a	<i>P</i>
Healthy vs. thrips-damaged	-235.10	< 0.05	-203.92	< 0.05
Thrips-inoculated vs. thrips-damaged	-163.44	0.52	-193.58	< 0.01
Healthy vs. thrips-inoculated	-220.80	0.53	-266.85	< 0.01

^a. The negative binomial distribution was used for planned comparision.



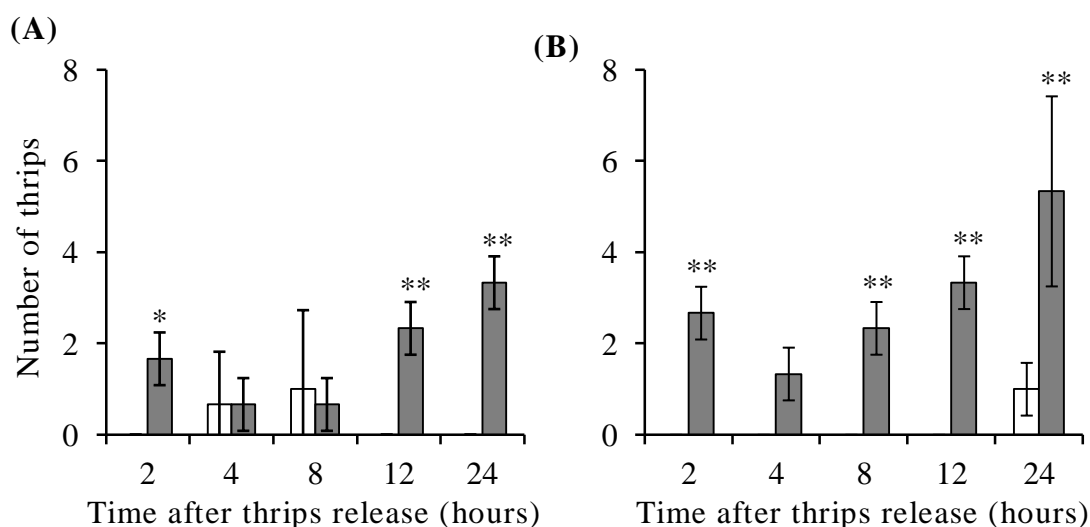
圖六、南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 幼蟲飼育於西瓜葉至前蛹期的平均發育時間 (平均 \pm 標準差)。薊馬幼蟲於薊馬接種感染西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 之西瓜葉發育時間 (黑色條帶, 健康薊馬 $n = 16$; 感染 WSMoV 之薊馬 $n = 28$); 薊馬幼蟲於薊馬取食之西瓜葉發育時間 (灰色條帶, 健康薊馬 $n = 20$; 感染 WSMoV 之薊馬 $n = 15$); 薊馬幼蟲於健康之西瓜葉發育時間 (白色條帶, 健康薊馬 $n = 32$; 感染 WSMoV 之薊馬 $n = 28$)。誤差線 (error bars) 表示標準差。圖中不同的字母表示數值間有顯著差異 (經負二項分布比較之 $P < 0.05$)。

Fig. 6. Developmental time from newly hatched larva to prepupa of *Thrips palmi* on watermelon leaf. Black columns: healthy thrips on thrips-inoculated plants (number of prepupa = 16); *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV)-infected thrips on thrips-inoculated plants (number of prepupa = 28); Grey columns: healthy thrips on thrips-damaged plants (number of prepupa = 20); WSMoV-infected thrips on thrips-damaged plants (number of prepupa = 15); White columns: healthy thrips on healthy plants (number of prepupa = 32); WSMoV-infected thrips on healthy plants (number of prepupa = 28). Different letters indicate statistical differences between means at $P < 0.05$ analyzed by negative binomial distribution.

4. 南黃薊馬成蟲之取食偏好性

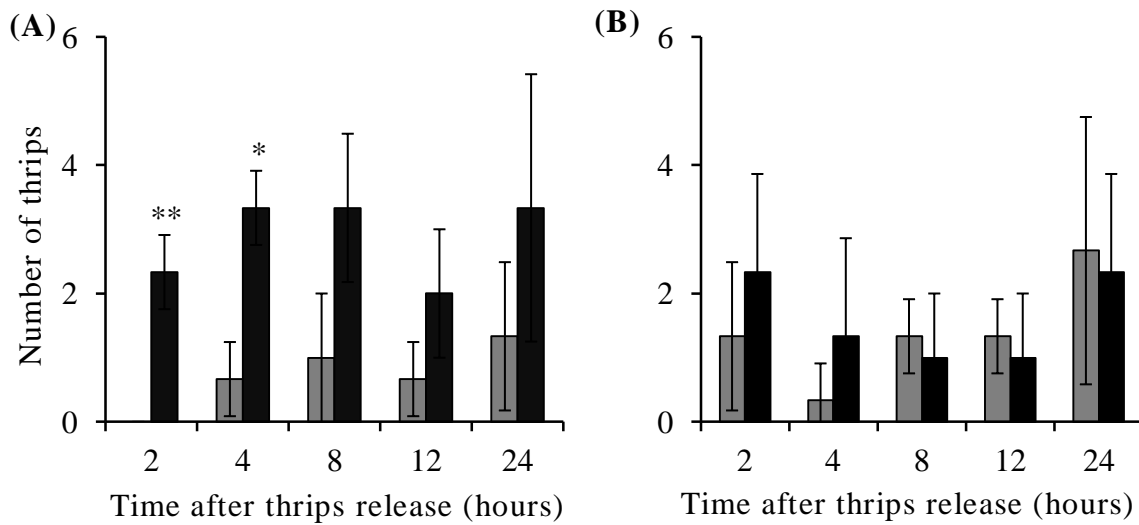
將南黃薊馬成蟲釋放於健康植株及經薊馬取食的植株之間，雌薊馬在 2、8、12、24 或雄薊馬在釋放 2、12、24 小時均對薊馬取食植物有較高的偏好性 (圖七)。當南黃薊馬釋放於經薊馬取食及薊馬接種感染 WSMoV 的植株間，雌薊馬在任何時間點對兩種植物的偏好性沒有差異，雄薊馬於釋放 2、4 小時對薊馬接種感染 WSMoV 的植株有較高的偏好性 (圖八)。這指出 WSMoV 的感染可增加雄薊馬對植株的偏好度。當南黃薊馬釋放於健康植株及薊馬接種感染 WSMoV 的植株間，雄薊馬在釋放後 4、8、12、24 小時或雌薊馬在任何時間點對薊馬接種感染 WSMoV 的植株有較高的偏好性 (圖九)。結果顯示南黃薊馬偏好取食感染 WSMoV 的植株。





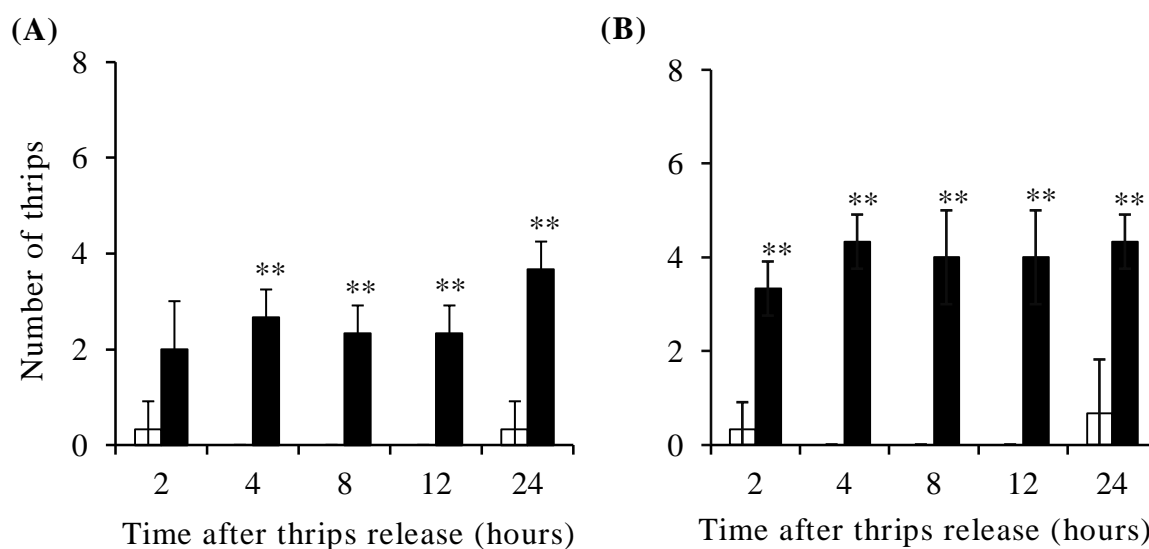
圖七、南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 成蟲對薊馬取食西瓜及健康西瓜植株的取食偏好性。(A) 薊馬雄成蟲在三次偏好性選擇實驗中，停留於薊馬取食西瓜 (灰色長條) 及健康西瓜 (白色長條) 植株上薊馬數量。(B) 薊馬雌成蟲在三次偏好性選擇實驗中，停留於薊馬取食西瓜 (灰色長條) 及健康西瓜 (白色長條) 植株上薊馬數量。每次實驗重覆在兩植物間釋放 10 隻薊馬成蟲。在偏好性實驗中 * 表示經符號檢定之 $P < 0.05$ 以及 ** 表示 $P < 0.01$ 。誤差線 (error bars) 表示標準差 (standard error)。

Fig. 7. Feeding preference of *Thrips palmi* adults to thrips-damaged versus healthy watermelon seedlings. (A) Number of male thrips adults on thrips-damaged (grey columns) and healthy seedlings (white columns) in three trials. (B) Number of female thrips adults on thrips-damaged (grey columns) and healthy seedlings (white columns) in three trials. Ten adults were released between the two seedlings at the beginning of the experiment. * and ** indicate significant differences ($P < 0.05$ and $P < 0.01$) between numbers of thrips adults on thrips-damaged and healthy seedlings by sign test. Error bars indicate the standard error of the mean.



圖八、南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 成蟲對薊馬取食西瓜及薊馬接種感染西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 之西瓜植株的取食偏好性。(A) 薊馬雄成蟲在三次偏好性選擇實驗中，停留於薊馬取食西瓜 (灰色長條) 及薊馬接種感染 WSMoV 之西瓜 (黑色長條) 植株上薊馬數量。(B) 薊馬雌成蟲在三次偏好性選擇實驗中，停留於薊馬取食西瓜 (灰色長條) 及薊馬接種感染 WSMoV 之西瓜 (黑色長條) 植株上薊馬數量。每次實驗重覆在兩植物間釋放 10 隻薊馬成蟲。在偏好性實驗中 * 表示經符號檢定之 $P < 0.05$ 以及 ** 表示 $P < 0.01$ 。誤差線 (error bars) 表示標準差 (standard error)。

Fig. 8. Feeding preference of *Thrips palmi* adults to thrips-damaged versus *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV)-infected watermelon seedlings. (A) Number of male thrips adults on thrips-damaged (grey columns) and WSMoV-infected seedlings (black columns) in three trails. (B) Number of female thrips adults on thrips-damaged (grey columns) and WSMoV-infected seedlings (black columns) in three trials. Ten adults were released between the two plants at the beginning of the experiment. * and ** indicate significant differences ($P < 0.05$ and $P < 0.01$) between numbers of thrips adults on thrips-damaged and WSMoV-infected seedlings by sign test. Error bars indicate the standard error of the mean.



圖九、南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 成蟲對薊馬接種感染西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 之西瓜及健康西瓜植株的取食偏好性。(A) 薊馬雄成蟲在三次偏好性選擇實驗中，停留於健康西瓜 (白色長條) 及感染 WSMoV 之西瓜 (黑色長條) 植株上薊馬數量。(B) 薊馬雌成蟲在三次偏好性選擇實驗中，停留於健康西瓜 (白色長條) 及感染 WSMoV 之西瓜 (黑色長條) 植株上薊馬數量。每次實驗重覆在兩植物間釋放 10 隻薊馬成蟲。在偏好性實驗中 * 表示經符號檢定之 $P < 0.05$ 以及 ** 表示 $P < 0.01$ 。誤差線 (error bars) 表示標準差 (standard error)。

Fig. 9. Feeding preference of *Thrips palmi* adults to thrips-damaged versus *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV)-infected watermelon seedlings. (A) Number of male thrips adults on healthy (white columns) and WSMoV-infected seedlings (black columns) in three trials. (B) Number of female thrips adults on healthy (white columns) and WSMoV-infected seedlings (black columns) in three trials. Ten adults were released between the two plants at the beginning of the experiment. * and ** indicate significant differences ($P < 0.05$ and $P < 0.01$) between numbers of thrips adults on thrips-damaged and WSMoV-infected seedlings by sign test. Error bars indicate the standard error of the mean.

討論

1. 番茄斑萎病毒屬病毒的傳播模式

南黃薊馬主要以持續性增殖型傳播模式傳播 WSMoV (表一、圖三)。一齡幼蟲獲毒後需等到羽化為成蟲始得以傳播病毒，此類特殊的 stage effect 與西方花薊馬傳播 TSWV 相同。二齡幼蟲獲毒成蟲傳毒的比例大幅降低至 0.6%。Chen *et al.* (2006) 報導南黃薊馬可以以非持續性傳播方式傳播，但本研究結果顯示南黃薊馬亦可以以半持續性傳播，但無法以非持續性傳播方式傳播。在其它由西方花薊馬傳播同為番茄斑萎病毒屬但不同血清群的病毒—TSWV 及鳳仙花壞疽斑點病毒 (*Impatiens necrotic spot virus*, INSV) 也有相同的傳播模式與 stage effect。在西方花薊馬傳播 TSWV 及 INSV 例子中，一及二齡幼蟲期皆可獲得病毒，且於成蟲期傳播病毒，但是薊馬獲得病毒的能力會隨薊馬分離株不同而改變，例如 TSWV 之 NL3 分離株僅能由西方花薊馬一齡幼蟲期獲毒且在成蟲期傳播病毒，但 TSWV 之 IS2 與 US2 分離株則可由一齡或二齡幼蟲期獲毒，並於成蟲期傳播病毒 (van de Wetering *et al.*, 1999a; Whitfield *et al.*, 2005)。另外，煙草花薊馬的一齡與二齡幼蟲也可以傳播 TSWV (Sakimura, 1963)。東方番茄薊馬 (*Ceratothripoides claratris*) 傳播與 WSMoV 相同血清群之番椒黃化病毒 (*Capsicum chlorosis virus*, CaCV)，不管是一齡幼蟲獲毒成蟲傳毒、二齡幼蟲獲毒成蟲傳毒及一齡幼蟲獲毒二齡幼蟲傳毒，均可有效地傳播 CaCV (Premachandra *et al.*, 2005)。綜合本研究中南黃薊馬傳播 WSMoV 以及文獻中 TSWV、INSV 及 CaCV 傳播生態學研究，可以發現薊馬傳播番茄斑萎病毒屬的病毒一齡幼蟲獲毒比二齡幼蟲獲毒於成蟲期的病毒傳播效率高，且隨薊馬分離株不同而有所差異。

南黃薊馬傳播 WSMoV 之傳播效率在性別間沒有顯著差異，與東方番茄薊馬傳播 CaCV 的情況相同 (Premachandra *et al.*, 2005)；但西方花薊馬傳播 TSWV 時，雄蟲相較於雌蟲有較高的傳播病毒效率 (van de Wetering *et al.*, 1999b; Stafford *et al.*, 2011)。此外，TSWV 對西方花薊馬取食行為的影響亦有性別差異。Stafford *et al.* (2011) 比較健康雌薊馬與雄薊馬成蟲及感染 TSWV 雌薊馬成蟲與雄薊馬成蟲的取食電位 (electrical penetration graphs)，

結果發現感染 TSWV 雄薊馬取食頻率高於健康雄薊馬，但是感染 TSWV 雌薊馬取食頻率與健康雌薊馬則沒有差異。可能由於不同血清群的病毒與不同種類病媒薊馬的交互作用，所以不同種類、不同性別的薊馬傳播病毒的效率亦不盡相同。

2. 番茄斑萎病毒屬病毒對薊馬存活率與發育速率之影響

本研究結果指出 WSMoV 對南黃薊馬的存活率與發育速率沒有直接效應。據 Whitfield *et al.* (2005) 指出過往的研究有兩大盲點：(1) 直接將健康薊馬飼養於健康植物上，而將感染病毒的薊馬飼養於感染病毒的植物上，然後比較存活率與發育速率等生活史特徵。由於感染病毒的植物及健康植物在營養條件有所差異，這樣的比較會使實驗結果受到植物營養條件的干擾。(2) 使用薊馬的非寄主植物做為薊馬取食的供試植物，如此薊馬在非寄主植物上的適存度之影響將大於病毒效應，進而干擾實驗結果。DeAngelis *et al.* (1993) 比較飼養於感染 INSV 的植物上與飼養於健康植物上的西方花薊馬之存活率與發育速率，結果發現取食染病植物對上述生活史特徵都有負面的影響。此外，Robb (1999) 亦比較飼養於感染 TSWV 的植物上與飼養於健康植物上之西方花薊馬發育速率之兩者的差異，結果發現取食染病植物會延長西方花薊馬的發育時間。Wijkamp *et al.* (1996) 讓初生西方花薊馬幼蟲取食歐曼陀羅 (*Datura stramonium*) 使其感染 TSWV，其後以西方花薊馬的非寄主植物矮牽牛 (*Petunia x hybrid* 'Blue Magic') 葉片飼育，然後記錄薊馬幼蟲的發育速率與存活率，並與未感染病毒之健康薊馬幼蟲進行比較，結果發現兩者的發育速率及存活率均無顯著差異。

除了 Whitfield *et al.* (2005) 點出以上兩大盲點外，我們亦發現，過往針對植物病毒對病媒薊馬的直接效應的相關研究，均使用可被病毒感染的寄主植物，因而尚無法完全排除病毒與寄主植物之間交互作用的影響，所以精確來說應當為間接效應。例如 Maris *et al.* (2004) 將健康西方花薊馬幼蟲以健康及感染 TSWV 之甜椒葉片飼養，進行發育速率及存活率比較。結果發現兩者之間存活率並沒有顯著差異，但薊馬幼蟲於感染 TSWV 之甜椒上的

發育速率較高。Belluire *et al.* (2005) 除了考量薊馬與寄主植物感染病毒與否之外，亦考量薊馬取食、機械傷害、薊馬接種感染 TSWV、機械接種感染 TSWV 等因子。結果發現健康西方花薊馬幼蟲飼育於經薊馬取食過的甜椒比飼育於健康植物，其存活率較低以及發育速率較慢；但西方花薊馬飼育於薊馬接種以及機械接種感染 TSWV 的甜椒則與飼育於健康甜椒者存活率及發育速率沒有顯著差異。這顯示 TSWV 對西方花薊馬幼蟲有正向的效應，但是此效應主要經由影響寄主植物再影響取食於其上的西方花薊馬的存活率與發育速率。病毒可能藉由抑制薊馬叮咬所引發的植物防禦機制，提供薊馬較佳寄主植物品質。西方花薊馬協助 TSWV 傳播，TSWV 協助縮短病媒薊馬幼蟲發育時間及增加存活率，以促進西方花薊馬傳播 TSWV (Belluire *et al.*, 2005)。阿拉伯芥 (*Arabidopsis thaliana*) 感染 TSWV 時，因薊馬取食而誘發的茉莉酸 (jasmonate, JA) 調控植物防禦機制會受到抑制，進而提高薊馬幼蟲存活率 (Abe *et al.*, 2012)。類似的現象也出現在煙草粉蝨 (*Bemisia tabaci*) 傳播的番茄黃化捲葉病毒 (*Tomato yellow leaf curl virus*) 上 (Zhang *et al.*, 2012)，說明這樣的機制可能廣泛地出現在持續性傳播模式昆蟲媒介植物病毒、病媒昆蟲與寄主植物的交互作用中。

雖然 Belluire *et al.* (2005) 的報告中區分清楚薊馬取食、機械傷害、薊馬接種 TSWV、機械接種 TSWV 等各種因子，對薊馬幼蟲存活率與發育速率之影響，可是在此報告中，並沒有逐一確認取食感染 TSWV 之甜椒的薊馬是否確實感染 TSWV，這樣會有因為薊馬幼蟲沒有感染病毒，而造成觀察到的效應有所偏差的風險。在本研究中，WSMoV 對南黃薊馬幼蟲的發育有間接效應 (圖六)，當感染 WSMoV 的薊馬幼蟲以薊馬接種感染 WSMoV 的西瓜葉飼養時，其發育速率顯著高於以健康西瓜葉飼養者。值得注意的是本研究有對薊馬前蛹進行 RT-PCR 前測試，確認實驗中的薊馬感染 WSMoV 比例為 90%，所以我們可以排除因薊馬幼蟲未感染 WSMoV 而造成的實驗誤差，此外本研究亦對薊馬幼蟲獲毒來源西瓜葉片進行 RT-PCR 檢測，確認直到薊馬幼蟲 AAP 結束時葉片都有可被偵測到的病毒濃度。

除了薊馬取食、寄主植物與機械傷害對薊馬存活率與發育速率有所影響外。病毒的分離株及病媒薊馬種類不同，也是重要影響因子。以感染 TSWV 之 CFL 分離株與 RG2 分離株之紫背草 (*Emilia sonchifolia*) 及歐曼陀羅飼養煙草花薊馬，結果發現取食感染 TSWV 的植物令煙草花薊馬體型減小、發育速率降低且存活率減低 (Stumpf and Kennedy, 2005)。以健康及分別感染 TSWV 之 CFL 與 RG2 分離株的紫背草及歐曼陀羅為寄主植物飼養西方花薊馬，結果發現當西方花薊馬取食感染 CFL 分離株之植物與取食健康植物相比，其發育速率提高、存活率增加；若西方花薊馬取食感染 RG2 分離株之植物，雖然與取食健康植物相比只有發育速率提高，但存活率並沒有顯著差異 (Stumpf and Kennedy, 2007)。本研究使用 WSMoV 的非寄主植物花豆葉片飼養感染 WSMoV 及健康薊馬幼蟲，藉此完全排除病毒與寄主植物間的交互作用干擾，直接探討 WSMoV 與南黃薊馬之間的交互作用。結果發現 WSMoV 不管是對南黃薊馬的存活率或發育速率都沒有直接影響。

雖然感染 WSMoV 的南黃薊馬取食感染 WSMoV 的西瓜葉片，其發育速率會提高，但是感染 WSMoV 的南黃薊馬於薊馬取食的西瓜葉片上發育速率最高，以及在健康西瓜葉片上發育時間最長 (圖六)。在西方花薊馬與 TSWV 的案例中，西方花薊馬於健康甜椒以及薊馬接種感染 TSWV 之甜椒的發育速率均較於經薊馬取食的甜椒發育發育速率來得高。因此有關 WSMoV 與南黃薊馬幼蟲的關係仍需要進一步實驗的澄清。

3. 南黃薊馬成蟲之取食偏好性

本研究分別使用不同性別南黃薊馬成蟲進行偏好性實驗。在經薊馬取食西瓜與健康西瓜偏好性實驗中及薊馬接種感染 WSMoV 的西瓜與健康西瓜偏好性實驗中，顯示薊馬取食可以增加西瓜植株對雌、雄薊馬的誘引力 (圖七)。另外，在薊馬取食與薊馬接種感染 WSMoV 西瓜偏好性實驗中，僅雄薊馬對感染 WSMoV 的西瓜有較高的偏好性 (圖八)；但雌薊馬則無偏好性，研究的結果指出 WSMoV 的感染對薊馬有吸引力且具性別上的差異。類似的病毒感染所產生的性別差異影響，也出現在西方花薊馬及其所傳播的

TSWV 上，TSWV 對西方花薊馬取食行為的影響有性別差異 (Stafford *et al.*, 2011)。當雄薊馬感染 TSWV 時，其取食頻率會增加，除了取食頻率外，雄薊馬發育時間亦會受到 TSWV 感染的影響。比較健康雄、雌薊馬之發育速率，發現感染 TSWV 之雄薊馬發育速率高於健康者，可是雌薊馬沒有這種現象 (Stumpf and Kennedy, 2007)。

雄薊馬對感染 WSMoV 的西瓜植株之取食偏好性可能源於植物對抗病原所產生的水楊酸 (salicylic acid)，Abe *et al.* (2012) 發現當阿拉伯芥感染 TSWV 時，水楊酸調控植物防禦機制相關基因之表現會顯著地提高，另外將水楊酸塗佈於健康阿拉伯芥葉面上時，會增加此植物對西方花薊馬的誘引力。另外許多種類的雄薊馬在其腹部腹板 (abdominal sternites) 具有腹板腺 (sternal glands) 或縫孔區 (areae porosae)，這些構造被認為與費洛蒙的產生有關係 (Mound, 2009)。花薊馬屬 (*Frankliniella*) 薊馬已有西方花薊馬、台灣花薊馬 (*F. intonsa*) 和梳缺花薊馬 (*F. schultzei*) 三種花薊馬被報導會產生聚集費洛蒙或性費洛蒙，吸引相同或不同性別薊馬聚集 (Milne *et al.*, 2002; de Kogel and van Deventer, 2003; Hamilton *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2011)。南黃薊馬形態上很可能也具有類似構造產生的聚集費洛蒙或性費洛蒙，以吸引雌薊馬進行交配。當雄薊馬被感染 WSMoV 的西瓜吸引而停留於植株上後，雄薊馬可能會釋放與前述類似的費洛蒙以吸引雌蟲前來交配，其後雌蟲會於感染 WSMoV 的植株上產卵，讓薊馬幼蟲得以獲得病毒，待發育至成蟲期時傳播 WSMoV。由此見得雄薊馬應於 WSMoV 流行病學中扮演不容忽視的角色。

在本研究中，不論雄薊馬或雌薊馬對被南黃薊馬取食的西瓜，展現較高的偏好性 (圖七)。這顯示薊馬取食會增加西瓜對薊馬的吸引力。據 Rhainds *et al.* (2007) 指出西方花薊馬取食菊花葉時，因為損害植物葉部細胞膜，使細胞內的類胡蘿蔔色素 (carotenoid pigment) 外漏，使葉部呈現黃色。南黃薊馬偏好經薊馬取食過植物，可能是由於薊馬對黃色有較高的偏好性 (Mainali and Lim, 2011)。此外 El-Sayed *et al.* (2009) 指出紐西蘭花薊馬 (*T. obscuratus*) 與蔥薊馬 (*T. tabaci*) 對植物受薊馬取食所產生的 *cis*-jasmone

具有偏好性。可是 Abe *et al.* (2009) 以阿拉伯芥為材料，發現當西方花薊馬取食後，有關 JA 調控植物防禦基因會大量表現。以塗抹 JA 之阿拉伯芥植株以及健康的植株對雌西方花薊馬進行偏好性測試，結果發現雌薊馬偏好健康的阿拉伯芥植株。但有趣的是以 JA-insensitive *coil-1* 阿拉伯芥突變株，進行薊馬偏好性試驗，發現薊馬對感染 TSWV 的阿拉伯芥突變株與健康的阿拉伯芥突變株的偏好性沒有顯著差異 (Abe *et al.*, 2012)。這顯示 JA 與 南黃薊馬的關係仍須更深入的研究才能澄清。

在本實驗中，WSMoV 感染的西瓜對雄南黃薊馬具有較高的吸引力，但是對雌薊馬則沒有顯示此種差異。但不論雌薊馬或雄薊馬對薊馬取食過的西瓜與健康西瓜相比較有較高的偏好性。這指出病毒的感染及薊馬的取食會影響寄主植物對薊馬的吸引力，此外雄薊馬在 WSMoV 傳播上應扮演重要的角色。

4. 結論

本研究確認南黃薊馬傳播 WSMoV 的傳播機制、試驗 WSMoV 對其病媒南黃薊馬幼蟲發育速率與存活率的直接與間接效應，此外也比較南黃薊馬對健康、薊馬取食及薊馬傳播感染 WSMoV 之植物取食偏好性進行調查。南黃薊馬主要以持續性增殖型傳播模式傳播 WSMoV，與西方花薊馬傳播 TSWV 之傳播模式相同。南黃薊馬主要於一齡幼蟲期獲得病毒，直到羽化為成蟲期才得以傳播 WSMoV，且病毒傳播能力沒有性別差異。感染 WSMoV 對南黃薊馬幼蟲之發育速率與存活率沒有直接影響。但是感染 WSMoV 的植物對南黃薊馬的幼蟲發育速率有間接的影響，南黃薊馬幼蟲於感染 WSMoV 的植物上之發育速率相較於健康植物上生長之南黃薊馬幼蟲快。薊馬成蟲取食偏好性方面，南黃薊馬雄成蟲對感染 WSMoV 的植物，顯示出較大的偏好性。本研究呈現 WSMoV 與南黃薊馬之互利共生關係，並提供南黃薊馬對 WSMoV 交互作用的概略架構，但是有關 WSMoV 與南黃薊馬交互作用更細部的關係，尚需進一步研究才可釐清。

參考文獻

- 王清玲。2002。臺灣薊馬生態與種類—櫻翅目 錐尾亞目。農業試驗所特刊第 99 號。pp. 328。
- 陳慶忠、柯文華、白桂芳、葉錫東。2004。西瓜銀斑病毒在西瓜上之發生生態。植病會刊 13: 317-327。
- 黃莉欣、蘇文瀛。1997。南黃薊馬 (*Thrips palmi* Karny) 繼代飼育方法之改進。植物保護學會會刊 39: 281-287。
- 黃莉欣、陳秋男。2004。溫度對茄葉上南黃薊馬生活史影響。植物保護學會會刊 46: 99-111。
- 鄧汀欽。2011。三十年台灣瓜類病毒病害的流行趨勢演變。農業試驗所特刊 152 號: 147-197。
- Abe H, Shimoda T, Ohnishi J, Kugimiya S, Narusaka M, Seo S, Narusaka Y, Tsuda S, Kobayashi M. 2009. Jasmonate-dependent plant defense restricts thrips performance and preference. *BMC Plant Biol* 9: 97.
- Abe H, Tomitaka Y, Shimoda T, Seo S, Sakurai T, Kugimiya S, Tsuda S, Kobayashi M. 2012. Antagonist plant defense system regulated by phytohormones assists interactions among vector insect, thrips and a tospovirus. *Plant Cell Physiol* 53: 204-212.
- Bautista RC, Mau RFL, Cho JJ, Custer DM. 1995. Potential of tomato spotted wilt tospovirus plant hosts in Hawaii as virus reservoirs for transmission by *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Phytopathology* 85: 953-958.
- Belliure B, Janssen A, Maris PC, Peters D, Sabelis MW. 2005. Herbivore arthropods benefit from vectoring plant viruses. *Ecol Lett* 8: 70-79.
- Bhatti JS. 1998. Species of genus *Thrips* from India (Thysanoptera). *Syst Entomol* 5: 109-166.
- Cannon RJC, Matthews L, Collins DW. 2007. A review of the pest status and control options for *Thrips palmi*. *Crop Prot* 26: 1089-1098.

- Chaisuekul C, Riley DG. 2005. Host plant, temperature, and photoperiod effects on ovipositional preference of *Frankliniella occidentalis* and *Frankliniella fusca*. *J Econ Entomol* 98: 2107-2113.
- Chen CC, Yeh SD, Hsu HT. 2006. Acquisition, incubation and transmission of *Watermelon silver mottle virus* by *Thrips palmi*. *Acta Hort* 722: 83-89.
- Chen TC, Lu YY, Cheng YH, Li JT, Yeh YC, Kang YC, Chang CP, Huang LH, Peng JC, Yeh SD. 2010. Serological relationship between *Melon yellow spot virus* and *Watermelon silver mottle virus* and differential detection of the two viruses in cucurbits. *Arch Virol* 155: 1085-1095.
- Chu FH, Yeh SD. 1998. Comparison of ambisense M RNA of *Watermelon silver mottle virus* with other tospoviruses. *Phytopathology* 88: 351-358.
- Chu FH, Chao CH, Chung MH, Chen CC, Yeh SD. 2001. Completion of the genome sequence of *Watermelon silver mottle virus* and utilization of degenerate primers for detecting tospoviruses in five serogroups. *Phytopathology* 91: 361-368.
- DeAngelis JD, Sether DM, Rossignol PA. 1993. Survival, development, and reproduction in Western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) exposed to *Impatiens necrotic spot virus*. *Environ Entomol* 22: 1308-1312.
- de Kogel WJ, van Deventer P. 2003. Intraspecific attraction in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*: indications for a male sex pheromone. *Entomol Exp Appl* 107: 87-89.
- El-Sayed AM, Mitchell VJ, McLaren GF, Manning LM, Bunn B, Suckling DM. 2009. Attraction of New Zealand flower thrips, *Thrips obscuratus*, to cis-jasmone, a volatile identified from Japanese honeysuckle flowers. *J Chem Ecol* 35: 656-663.
- EPPO/CABI. 1997. *Thrips palmi*. pp 1-11. In: Smith IM, McNamara DG, Scott PR, Holderness M (eds). *Quarantine Pests for Europe*. Wallingford, CAB International.
- Hamilton JGC, David RH, Kirk WDJ. 2005. Identification of a male-produced aggregation pheromone in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *J Chem Ecol* 31: 1369-1379.
- Hogenhout SA, Ammar ED, Whitfield AE, Redinbaugh MG. 2008. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annu Rev Phytopathol* 46: 327-359.

- Mainali B, Lim UT. 2011. Behavioral response of western flower thrips to visual and olfactory cues. *J Insect Behav* 24: 436-446.
- Maris PC, Joosten NN, Goldbach RW, Peters D. 2004. *Tomato spotted wilt virus* infection improves host suitability for its vector *Frankliniella occidentalis*. *Phytopathology* 94: 706-711.
- Milne M, Walter GH, Milne JR. 2002. Mating aggregations and mating success in the flower thrips, *Frankliniella schultzei* (Thysanoptera: Thripidae), and a possible role for pheromones. *J Insect Behav* 15: 351-368.
- Mound LA. 2009. Sternal pore plates (glandular areas) of male Thripidae (Thysanoptera). *Zootaxa* 2129: 29-46.
- Nagata T, Nagata-Inoue AK, Smid HM, Goldbach R, Peters D. 1999. Tissue tropism related to vector competence of *Frankliniella occidentalis* for tomato spotted wilt tospovirus. *J Gen Virol* 80: 507-515.
- Nault LR. 1997. Arthropod transmission of plant virus: a new synthesis. *Ann Entomol Soc Am* 90: 521-541.
- Okuda M, Taba S, Hanada K. 2003. The S RNA segment determines symptom differences on *Tetragonia expansa* between two *Watermelon silver mottle virus* isolates. *Physiol Mol Plant Pathol* 62: 327-332.
- Premachandra WTSD, Borgemeister C, Maiss E, Knierim D, Poehling HM. 2005. *Ceratothripoides claratris*, a new vector of a *Capsicum chlorosis virus* isolate infecting tomato in Thailand. *Phytopathology* 95: 659-663.
- Pappu, HR, Jones RAC, Jain RK. 2009. Global status of Tospovirus epidemics in diverse cropping systems: successes achieved and challenges ahead. *Virus Res* 141: 219-236.
- Peng JC, Yeh SD, Huang LH, Li JT, Cheng YF, Chen TC. 2011. Emerging threat of thrips-borne *Melon yellow spot virus* on melon and watermelon in Taiwan. *Eur J Plant Pathol* 130: 205-214.
- Rhainds M, Doyon J, Rivoal J, Brodeur J. 2007. Thrips-induced damage of chrysanthemum inflorescences: evidence for enhanced leakage of carotenoid pigments. *Entomol Exp Appl* 123: 247-252.

- Robb KL. 1989. Analysis of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) as a pest of floricultural crops in California greenhouses [dissertation]. University of California, Riverside. 135 pp.
- Sakimura K. 1963. *Frankliniella fusca*, an additional vector for the *Tomato spotted wilt virus*, with notes on *Thrips tabaci*, a thrips vector. *Phytopathology* 53: 412-415.
- Sisterson MS. 2009. Transmission of insect-vectored pathogens: effects of vector fitness as a function of infectivity status. *Environ Entomol* 38: 345-355.
- Stafford CA, Walker GP, Ullman DE. 2011. Infection a plant virus modifies vector feeding behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 9350-9355.
- Stumpf CF, Kennedy GG. 2005. Effects of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) isolates, host plants, and temperature on survival, size, and development time of *Frankliniella fusca*. *Entomol Exp Appl* 114: 215-225.
- Stumpf CF, Kennedy GG. 2007. Effects of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) isolates, host plants, and temperature on survival, size, and development time of *Frankliniella occidentalis*. *Entomol Exp Appl* 123: 139-147.
- Swallow WH. 1985. Group testing for estimating infection rates and probabilities of disease transmission. *Phytopathology* 75: 882-889.
- Uga H, Tsuda S. 2005. A one-step reverse transcription-polymerase chain reaction system for the simultaneous detection and identification of multiple tospovirus infections. *Phytopathology* 95: 166-171.
- Ullman DE, Cho JJ, Mau RFL, Westcot DM, Custer DM. 1992. A midgut barrier to *Tomato spotted wilt virus* acquisition by adult western flower thrips. *Phytopathology* 82: 1333-1342.
- Ullman DE, German TL, Sherwood JL, Westcot DM, Cantone FA. 1993. Tospovirus replication in insect vector cells: immunocytochemical evidence that the nonstructural protein encoded by the S RNA of tomato spotted wilt tospovirus is present in thrips vector cells. *Phytopathology* 83: 456-463.
- van de Wetering F, Goldbach R, Peters D. 1996. Tomato spotted wilt tospovirus ingestion by first instar larvae of *Frankliniella occidentalis* is a prerequisite for transmission. *Phytopathology* 86: 900-905.

- van de Wetering F, van der Hoek M, Goldbach R, Peters D. 1999a. Differences in *Tomato spotted wilt virus* vector competency between males and females of *Frankliniella occidentalis*. *Entomol Exp Appl* 93: 105-112.
- van de Wetering F, van der Hoek M, Goldbach R, Mollema C, Peters D. 1999b. Variation in tospovirus transmission between populations of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Bull Entomol Res* 89: 579-588.
- Whitfield AE, Ullman DE, German TL. 2005. Tospovirus-thrips interactions. *Annu Rev Phytopathol* 43: 459-489.
- Wijkamp I, Goldbach R, Peters D. 1996. Propagation of *Tomato spotted wilt virus* in *Frankliniella occidentalis* does neither result in pathological effects nor in transovarial passage of the virus. *Entomol Exp Appl* 81: 285-292.
- Yeh SD, Lin YC, Cheng YH, Jih CL, Chen MJ, Chen CC. 1992. Identification to tomato spotted wilt-like virus on watermelon in Taiwan. *Plant Dis* 76: 835-840.
- Yeh SD, Sun IJ, Ho HM, Chang TF. 1996. Molecular cloning and nucleotide sequence analysis of the S RNA of *Watermelon silver mottle virus*. *Acta Hort* 431: 244-260.
- Zhang PJ, Zhu XY, Lu YB. 2011. Behavioral and chemical evidence of a male-produced aggregation pheromone in the flower thrips *Frankliniella intosa*. *Physiol Entomol* 36: 317-320.
- Zhang T, Luan JB, Qi JF, Huang CJ, Li M, Zhou XP, Liu SS. 2012. Begomovirus-whitefly mutualism is achieved through repression of plant defences by a virus pathogenicity factor. *Mol Ecol* 21: 1294-1304.