

國立臺灣大學生物資源暨農學院昆蟲學系暨研究所

碩士論文

Department and Graduate Institute of Entomology

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

臺灣地區新入侵煙草粉蝨 Q 型生物小種族群遺傳結

構與入侵源之研究

Population genetics and the origin of new invasive
biotype Q of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in

Taiwan



蔣宜弦

Yi-Hsien Chiang

指導教授：柯俊成 博士

Advisor: Chiun-Cheng Ko, Ph.D.

中華民國 98 年 6 月

June, 2

國立臺灣大學碩士學位論文

口試委員會審定書

臺灣地區新入侵煙草粉蝨 Q 型生物小種族群遺傳結構與入侵源之研究
Population genetics and the origin of new invasive biotype Q of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Taiwan

本論文係蔣宜弦君（學號 R96632016）在國立臺灣大學昆蟲學系完成之碩士學位論文，於民國九十八年六月二十五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：



張慧羽 博士（召集人）

國立臺灣大學昆蟲學系教授



柯俊成 博士（指導老師）

國立臺灣大學昆蟲學系教授



徐竣峰 博士

國立臺灣師範大學生命科學系教授



辛竹英 博士

國立屏東科技大學植物醫學系副教授兼系主任



王弘毅 博士

國立臺灣大學醫學院臨床醫學研究所助理教授

國立臺灣大學昆蟲學系系主任：



誌謝

本論文之完成首先要感謝指導教授柯俊成老師，兩年來在學術上的指導與生活上的關照，在實驗遇到困難時的教導與指引，使我的研究能順利進行，並在論文寫作上給予建議，使我可以排除萬難，順利完成這本論文。

同時感謝張慧羽老師對於遺傳理論提供許多寶貴的意見，並在論文的寫作上給予多方的建議。感謝徐堉峰老師於親緣地理關係觀念的釐清，以及王弘毅老師對於分子演化與資料的分析指導，使我受益匪淺。並感謝及辛竹英老師對於論文的指正與建議，使論文內容更加完整。

感謝謝佳宏博士兩年來，在實驗設計、分析方法和採集所提供的協助，使我的論文內容更加縝密。亦要感謝楊景程學長在資料的分析上提供建議。以及東華大學黃國靖老師帶領我走進昆蟲的領域。

煙草粉蝨樣本的獲得，感謝 Dr. S. J. Suh (National Plant Quarantine Service, Goyang, South Korea) 在韓國採集所提供的協助。粉蝨樣本採集上的協助，亦要感謝國立臺灣大學昆蟲學系陳俊宏、吳復生、方華德、黎淑芬等人於採集時的協助，同時也要感謝盆花協會理事長莊瀛正，以及聖誕紅業者鍾侑煌、吳亦炳、黃國鏘和林先生提供採集的協助。在此由衷表達謝意。

感謝黃馨論、李仁耀、洪玉靜、洪惠方、Dr. Dubey、張德斌、楊世綵、施圓通、曹昌旺和張奕元等人於論文期間的關懷與幫助。

最重要的是要感謝我的父母與家人多年來的支持與鼓勵，使我可以順利完成學業。感謝所有幫助過我的人。

中文摘要

煙草粉蝨 (*Bemisia tabaci*) 被列為世界百大入侵生物種之一，造成農業和經濟上嚴重的危害。目前世界上共訂名超過 26 型生物小種。最近研究指出 Q 型生物小種近年來隨著聖誕紅迅速的擴散至世界各地。入侵臺灣的 Q 型生物小種於 2006 年 2 月，首度於臺南的亞洲蔬菜研究發展中心發現。在 791 筆臺灣地區的採集資料中，僅在 7 個聖誕紅的溫室內發現到 Q 型生物小種，推測目前還是屬於入侵的初期。本研究探討入侵來源具有重要的意義，可做為檢疫工作上的依據，加強檢測由特定管道所進口的花卉，預防 Q 型生物小種的再次入侵。親緣地理學之研究，利用粒線體 COI 序列做為遺傳標記，探討煙草粉蝨的 Q 型生物小種，在世界各地的遺傳差異及擴散途徑。建構最小跨度網狀圖，發現 Q-related 型生物小種起源於中、西非洲，而 Q 型生物小種起源於歐洲和亞洲交界處，並以自然擴散的方式進入歐洲，而入侵世界各地的 Q 型生物小種源自於歐洲，推測是藉由人類貿易行為擴散。利用 12 個微衛星基因座 (microsatellite loci)，研究煙草粉蝨 Q 型生物小種族群的遺傳結構和親緣關係，發現臺灣地區的 Q 型生物小種族群可能來自兩次以上的入侵。桃園復興的族群呈現獨特的遺傳結構，顯示溫室內的族群來自一個單一的入侵源。根據隔離分化模式的分析，臺灣地區其他溫室內各族群基因交流頻繁，推測是隨著種苗交換，而在各個溫室之間擴散，使遺傳分化差異小。因此防治策略上，要加強歐洲進口花卉的檢疫，亦要注意種苗交換的問題，防止 Q 型生物小種在臺灣地區的溫室之間迅速擴散。

關鍵字：害蟲、入侵種、聖誕紅、粒線體 DNA、微衛星 DNA、親緣地理

Abstract

The sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, is among the top 100 invasive pests in the world. This species causes serious agricultural damages in many countries. More than 26 biotypes have been detected worldwide. Recently, biotype Q was reported as a new invasive pest globally which has spread throughout the world with the trade of poinsettia (*Euphorbia pulcherimma*). In 2006, biotype Q was first recorded at the World Vegetable Center in Tainan, Taiwan. After wards, 791 samples were collected in Taiwan. Biotype Q was found in 7 poinsettia greenhouses, but not in the field. I hypothesized that it is in the early stages of invasion. Determining the origin of this invasion is important for importing quarantine. This study provides information for eradication program, and further introductions and reinvasions will hopefully be avoided by applying intensive quarantine regulations on possible invasion routes. Using mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) sequences as a molecular marker to study phylogeography, I explored genetic differences and dispersal patterns of *B. tabaci* biotype Q in the world by reconstructing a minimum spanning network. The origin of biotype Q-related biotypes was in Central and West Africa. However, the origin of biotype Q was somewhere between Europe and Asia, and then it spread into Europe by natural dispersal. Recent invasion events in the world of biotype Q were from Europe. This suggests that it spread by human trade. Moreover, I applied 12 microsatellite loci by means of multiplex polymerase chain reaction (PCR) to investigate phylogenetic relationships and the population structure of *B. tabaci* biotype Q populations. Results suggest that there were at least 2 invasions of Taiwan. The genetic structure of the Fusing population (Taoyuan County, northwestern Taiwan) possesses molecular characteristics, suggesting that the population initiated from an independent invasion. Furthermore, great gene flow and slight genetic differentiation among populations in

Taiwan were shown by violating the isolation by distance expectation. The migration of individuals between greenhouses may be caused by the movement of poinsettias between greenhouses and other human activities. The program of pest management should prescribe the plantlet trade regulation to avoid further dispersal of *B. tabaci* Q biotype among greenhouses in Taiwan.

Keywords: pest, invasive species, poinsettia, COI sequence, microsatellite markers, phylogeography



目 錄

| | |
|-------------------------------------|------|
| 口試委員審定書 | |
| 誌謝 | I |
| 中文摘要 | II |
| 英文摘要 | IV |
| 目錄 | V |
| 表次 | VII |
| 圖次 | VIII |
| 壹、前言 | 1 |
| 貳、往昔研究 | 4 |
| 一、煙草粉蝨種群與鑑定 | 4 |
| 二、煙草粉蝨 Q 型生物小種 | 5 |
| 三、Q 型生物小種的危害 | 6 |
| 四、生物入侵 | 8 |
| 五、粒線體 DNA 在煙草粉蝨之研究 | 9 |
| 六、微衛星 DNA 在煙草粉蝨之研究 | 11 |
| 七、臺灣地區 Q 型生物小種之研究 | 13 |
| 參、材料與方法 | 15 |
| 一、標本的採集及保存 | 15 |
| 二、萃取基因組 DNA | 15 |
| 三、測定生物小種 | 16 |
| 四、粒線體 (Mitochondrial) COI 基因序列之資料分析 | 16 |
| 五、微衛星基因座的增幅與資料分析 | 22 |
| 肆、結果 | 31 |
| 一、臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種採集和分布情形 | 31 |
| 二、粒線體 (Mitochondrial) COI 基因序列之資料分析 | 33 |

| | |
|----------------------------------------------|----|
| 三、微衛星基因座的增幅與資料分析 | 40 |
| 伍、討論 | 52 |
| 一、臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種分布情形 | 52 |
| 二、親緣關係之分析 | 54 |
| 三、親緣地理學之探討 | 56 |
| 四、遺傳結構之探討 | 57 |
| 五、入侵模式和擴散方式之探討 | 58 |
| 六、監測防治之建議 | 60 |
| 陸、結論 | 63 |
| 柒、參考文獻 | 65 |
| 捌、附錄 | 74 |
| 附錄一、煙草粉蝨 Q 型生物小種採集記錄 | 74 |
| 附錄二、臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種粒線體 COI 序列 比對結果 | 77 |
| 附錄三、利用 ΔK 選出最適合分群數 K 值為 8 | 78 |



表 次

| | |
|---------------------------------|----|
| 表一 供試煙草粉蝨 Q 型生物小種樣本 | 17 |
| 表二 煙草粉蝨生物小種專一性引子組序列及其黏合溫度 | 20 |
| 表三 供試之煙草粉蝨微衛星基因座之引子組 | 25 |
| 表四 臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種採集記錄 | 32 |
| 表五 本研究供試之煙草粉蝨 COI 序列 | 35 |
| 表六 族群遺傳結構分析 | 42 |
| 表七 煙草粉蝨族群間遺傳分化指數 | 43 |
| 表八 瓶頸效應檢測 | 45 |



圖 次

| | |
|---------------------------------|----|
| 圖一 臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種採集位置圖 | 18 |
| 圖二 國外煙草粉蝨 Q 型生物小種採集位置圖 | 19 |
| 圖三 煙草粉蝨粒線體 COI 序列，以鄰近法所建構之親緣關係樹 | 38 |
| 圖四 煙草粉蝨 Q 型生物小種之最小跨度網狀圖 | 39 |
| 圖五 煙草粉蝨微衛星基因座，以鄰近法建構之親緣關係樹 | 46 |
| 圖六 鄰近法建構臺灣地區 4 個族群間微衛星基因座之親緣關係樹 | 48 |
| 圖七 微衛星基因座之貝氏分群分析 | 51 |



壹、前言

煙草粉蝨 (*Bemisia tabaci*) 為半翅目 (Hemiptera)，胸喙亞目 (Sternorrhyncha)，粉蝨科 (Aleyrodidae)，粉蝨亞科 (Aleyrodinae)，伯粉蝨屬 (*Bemisia*) 的昆蟲。歷史記錄上，在希臘的煙草上首度被描述，並命名為 *Aleyrodes tabaci* (Gennadius, 1889)，往後亦有許多命名事件被討論，其中最重要的是 Takahashi (1936) 將 *A. tabaci* 併入伯粉蝨屬中，此乃現今 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 的由來。煙草粉蝨性別決定為單雙套機制，單套 (haploid) 為雄蟲，雙套 (diploid) 為雌蟲。雌蟲產下的卵無論受精與否皆可孵化，受精卵產生雌蟲，未受精則產生雄蟲。煙草粉蝨至今被發表超過 26 型生物小種，區分成 12 個遺傳群 (Perring, 2001; Boykin *et al.*, 2007; Hsieh *et al.*, 2008)，是農業及花卉上重要的害蟲。危害的方式包括銀葉病及傳播多種植物病毒，在墨西哥、印尼和巴西等國家，嚴重危害樹薯和紅蕃椒等農作物，使大批農民失去工作機會，造成嚴重的經濟及糧食危機，成蟲和若蟲以刺吸式口器攝食植物葉片汁液，大量的攝食容易導致植物葉片衰弱，蟲體分泌的蜜露，容易引發煤煙病，密度高時葉片呈現黑色，嚴重影響花卉的美觀與價格 (Boykin, 2007; De Barro *et al.*, 2008)。

煙草粉蝨種群中，以 B 和 Q 型生物小種最受到各國的關注，兩者除了有相近的親緣關係和生存環境，也都演化出較高的抗藥性，因此成為世界上重要的農業害蟲。B 型生物小種自從 1985 年大發生以來，已擴散至世界各地，主要是因為國際間觀賞性作物聖誕紅盆栽的貿頻繁所傳播。Q 型生物小種相對於 B 型生物小種，在繁殖力、發育速度和生殖行為上均位居劣勢，但是因為 Q 型生物小種對於百利普芬 (pyriproxyfen)、益達胺 (imidacloprid) 等化學殺蟲劑有較高的抗藥性，而且對於極端的溫度和乾燥的環境有較高的耐受度，所以在溫室的環境中是優勢的生物小種 (Horowitz *et al.*, 2005)。荷蘭及地中海地區國家是溫室花卉的培育中心，對外輸出的

花卉佔有率達 50% 以上，隨著花卉及蔬果貿易日漸頻繁，原本只分布在地中海區域的 Q 型生物小種，正隨著花卉及種苗的貿易迅速的擴散至世界各地 (Dalton, 2006)。

煙草粉蝨目前臺灣地區共記錄有 4 型生物小種，其中 An 和 Nauru 為本土的生物小種，而 B 和 Q 為入侵的生物小種 (Hsieh *et al.*, 2005, 2006, 2007, 2008)。Q 型生物小種採集記錄，最早發現於臺南的亞洲蔬菜研究發展中心，隨著盆栽的來源亦在苗栗卓蘭的溫室中，調查到 Q 型生物小種的煙草粉蝨 (Hsieh *et al.*, 2007)。生物入侵的狀態可分為四個主要時期；進口 (import)、引入 (introduction)、立基 (establishment) 和危害 (pest)，根據入侵生物學之十分之一法則 (Williamson and Fitter, 1996)，每一個時期成功進入另一個時期的成功機率為 10%，所以外來生物從入侵而能造成危害是機率很低的事件，通常需要一段時間內多次的入侵才有可能成為有害生物。入侵之煙草粉蝨生物小種常藉著多次入侵來達到成功立足，東亞地區之入侵 B 型生物小種存在多次入侵的現象，西北太平洋地區之 Q 型生物小種亦有多次入侵的現象 (Hsieh *et al.*, 2006, 2007)。最近的研究顯示，Q 型生物小種在臺灣地區，目前介於進口和引入階段，尚未建立野外族群亦未成為有害生物 (Hsieh *et al.*, 2008)，臺灣地區之新入侵 Q 型生物小種，臺灣地區目前僅在聖誕紅溫室內偵測到新入侵 Q 型生物小種，而且樣本間之粒線體 COI 序列相似度為 100%，推測為單一的入侵事件 (Hsieh *et al.*, 2007, 2008)。然而 COI 序列的變異度不高，解析力不夠，臺灣地區 Q 型生物小種是否也存在多次入侵的現象，仍然有討論的空間。

近年來分子生物學與生物技術快速發展，族群分子遺傳學在近十年來得以快速發展。紅火蟻的入侵與偵測中，透過微衛星 DNA 的遺傳結構檢視，可推測不同的入侵來源、擴散模式，廣泛於應用檢測入侵生物的族群遺傳結構，推測入侵的歷史事件 (Yang *et al.*, 2008)。此外，選擇適當的分

子標記，對煙草粉蝨做親緣地理學的研究，可以重建族群的擴散與分化，並探討人為事件對族群入侵之影響。微衛星基因座由於多型性高、序列長度短、共顯性遺傳且多為中性演化，常被用來研究族群內個體間或族群間的遺傳結構，個體之間可偵測親子關係或評估親緣關係，在族群內檢視遺傳多樣性及遺傳結構，可用來推測交配模式 (Winters and Waser, 2003)、推判族群是否遭受近期的瓶頸效應 (Cornuet and Luikart, 1996)，族群間可評估基因交流的程度 (Hampton *et al.*, 2004)，推測族群擴散的模式 (Dalmon *et al.*, 2007)。

本研究從族群遺傳及遺傳多樣性的角度，以粒線體 COI 序列，探討 Q 型生物小種的起源與擴散，並利用微衛星 DNA 基因座做為分子標記，判定目前臺灣地區入侵事件的情形，包含入侵次數以及在臺灣地區溫室之間的遷移。希望可以提供防疫檢疫及蟲害管理的建議，避免 Q 型生物小種再次入侵臺灣，減少在野外建立族群的機會。



貳、往昔研究

煙草粉蝨寄主植物範圍廣泛，除了吸取植物汁液，同時能傳播超過 110 種的植物病毒 (Jones, 2003)，引起多種植物的病徵，造成糧食及經濟作物上嚴重的損失，近年來由於農業和花卉貿易頻繁而迅速擴散至世界各地，目前廣泛分布於熱帶、亞熱帶及溫帶地區，是重要的農業害蟲之一。

一、煙草粉蝨種群與鑑定

煙草粉蝨為一種群，由於各群之間有遺傳上的差異，但是形態上無法區分，所以分類的方式仍然沒有共識，現今以生物小種 (biotype) 和遺傳群 (genetic group) 這兩種方式，最廣受研究學者的使用。世界各地的煙草粉蝨最早被分為 24 型生物小種 (Perring, 2001)。後來由於陸續的發表新型生物小種，以及刪除同物異名的情況，增加及刪改後分為至少 26 型生物小種 (Hsieh *et al.*, 2008)，最新的研究報告則認為約有 41 型的生物小種 (Rabello *et al.*, 2008)。最近許多的研究傾向分為 12 個遺傳群 (genetic group) (Boykin *et al.*, 2007)。在農學方面目前仍然以生物小種這種說法為主 (Hsieh *et al.*, 2008)。

生物小種的鑑定早期以 RAPD-PCR (random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction) 的方式進行 (Perring *et al.*, 1993; De Barro and Driver, 1997; Guirao *et al.*, 1997)，但是重現性上比較不穩定，且在結果的判讀耗時費工。粒線體 DNA 的 16S 及 COI 序列與核糖體 DNA 的 ITS 序列分析比對，亦可應用於煙草粉蝨生物小種的分析 (Frohlich *et al.*, 1999; De Barro *et al.*, 2000; Hsieh *et al.*, 2005)，但是定序的過程相當耗時且成本高。害蟲的鑑定講求快速鑑定，因此最近利用粒線體 DNA 進行序列特徵化增幅區域 (sequence characterized amplified region, SCAR) 引子的設計，直接由 PCR 的結果，可以更快速而且準確的測定不同的生物小種 (Ko *et al.*, 2007)。多對引子聚合酶連鎖反應 (Multiplex PCR) 和即時定量聚合

酶連鎖反應 (real-time PCR)，將可提供更快速的生物小種鑑定 (Hsieh and Ko, unpublished)。

二、煙草粉蝨 Q 型生物小種

所有生物小種中，遺傳結構與 Q 型生物小種接近的，有 Q-related、Ms 和 B 型生物小種 (Boykin, 2007)。2004 年辛巴威 (Zimbabwe) 及喀麥隆 (Cameroon) 所發現的三個單倍型，以及 2006 年在奈及利亞 (Nigeria) 和迦納 (Ghana) 所發現的九個單倍型 (Berry *et al.*, 2004; De La Rúa *et al.*, 2006)，由於遺傳結構最接近 Q 型生物小種，但在南瓜葉片上會引發銀葉病，生理上不同於 Q 型生物小種，所以訂名為 Q-related 型生物小種。Ms 型生物小種分布於，印度洋的西南方東非留尼旺島 (Reunion)、馬達加斯加 (Madagascar) 和塞席爾群島 (Seychelles) 等地，經過實驗發現不但能引發南瓜銀葉病，同時也能傳播蕃茄黃化捲葉病毒 (tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) (Delatte *et al.*, 2005)。現今農業和經濟嚴重損失的包括 B 和 Q 型生物小種，B 型生物小種就是銀葉粉蝨 (*Bemisia argentifolii*)，因為寄主植物廣泛，又能傳播許多植物病毒最受到重視，並且經由人類的貿易活動，快速的擴散到全世界，對於熱帶、亞熱帶、乾燥及地中海型氣候地區作物造成嚴重危害 (Brown *et al.*, 1995; Frohlich *et al.*, 1999; De Barro *et al.*, 2000; Perring, 2001); Q 型生物小種分布於地中海、中東、北非地區 (Brown, 2000)，最早在伊比利半島地區發現，於 1997 年首度在西班牙被發表 (Guiraro *et al.*, 1997)，2005 年之前環地中海的國家，陸續發表有關 Q 型生物小種的相關報告，後來研究陸續證實 Q 型生物小種，已遍佈黎巴嫩半島、薩丁尼亞、突尼西亞、克羅埃西亞、阿爾及利亞、意大利、德國、以色列、塞普路斯、埃及等國家 (Horowitz *et al.*, 2003, 2005; Simon *et al.*, 2007)，在 2005~2009 年間，中國、日本、韓國、美國、瓜地馬拉和墨西哥，也相繼發表及報導有關 Q 型生物小種的採集記錄 (Chu *et al.*, 2005;

Dennehy *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005; Ueda and Borwn, 2006; Borwn, 2007; Martinez-Carrillo and Brown, 2007; Bethke *et al.*, 2009)。

三、Q 型生物小種的危害

Q 型生物小種相較於 B 型生物小種，雌蟲繁殖力、雌蟲的存活率及發育的速度，都位居劣勢，且在實驗室的環境中，B 型生物小種可以競爭並取代 Q 型生物小種，成為優勢小種 (Pascual and Callejas, 2004)。但是在少數野外地區 Q 型生物小種仍具有生存優勢，以西班牙地區為例，Q 型生物小種在部分的雜草和農作物上，比 B 型生物小種更具有競爭優勢，不但沒有被取代，反而在蕃茄、辣椒和萵苣等作物上比 B 型生物小種造成更嚴重的危害，因為在三種雜草 *Malva parviflora* L.、*Capsella bursa-pastoris* L.、*Brassica kaber* (DC) 上，Q 型生物小種雌蟲產卵量、化蛹數、成蟲羽化率等，顯著高於 B 型生物小種；此外，在 26°C 的情況下，Q 型生物小種在雜草曼陀羅 (*Datura stramonium*) 和龍葵 (*Solanum nigrum*) 上，從卵發育到成蟲歷期 (分別為 22 天、20 天) 明顯短於 B 型生物小種所需的時間 (分別為 23 天、22 天)，這些雜草是 Q 型生物小種的重要寄主，為該型生物小種為害農作物提供大量蟲源，使其具有更強的入侵性 (Muniz, 2000)。部分的農作物也發現 Q 型生物小種的競爭優勢，在甜椒上 17°C、33°C 時平均世代歷期 (分別為 46 天、17 天) 比 B 型生物小種的 (分別為 49 天、18 天) 要短 (Muniz and Nombela, 2001); 在部分品種的蕃茄上，Q 型生物小種比 B 型生物小種具有更強的危害性 (Nombela *et al.*, 2001)。Q 型生物小種還具有很強的傳毒能力，使蕃茄黃葉捲葉撒丁病毒 (Tomato yellow leaf curl Sardinia virus, TYLCSV-ES) 可以在蕃茄和兩種雜草上 (*D. stramonium*、*S. nigrum*) 相互傳播 (Jiang *et al.*, 2004)。

Q 型生物小種最大潛在的危害，是對於部分化學殺蟲劑具有很高的抗性，而 Q 型生物小種對化學殺蟲劑的抗性，對於族群的增長相當有利，研

究已發現 Q 型生物小種對於百利普芬 (pyriproxyfen)、益達胺 (imidacloprid) 等化學殺蟲劑有較高的抗藥性 (Horowitz *et al.*, 2005)。已有不少實驗證明 B 型生物小種很難控制和防治，但北美植物保護組織 (North American Plant Protection Organizations, NAPPO) 植物檢疫預警系統 (Phytosanitary Alert System) 的資料認為 Q 型生物小種的危害性超過 B 型生物小種。最近的研究發現，在沒有殺蟲劑的選汰壓力下，Q 型生物小種對於新尼古丁類 (neonicotinoid) 殺蟲劑的抗性比較穩定，而 B 型生物小種對於新尼古丁類的抗性則會急遽下降 (Rauch and Nauen, 2003)。在意大利和德國採集的樣本，都可以發現對於新尼古丁類具有很高的抗性，在西班牙 Almeria 地區所採集的樣本尤其突出，而且在沒有殺蟲劑的選汰下，仍然可以保持至少 2 年的抗性 (Nauen *et al.*, 2002)。此外，對 Q 型生物小種進行新尼古丁類殺蟲劑的選汰，亦能夠對於百利普芬產生抗藥性，由於上述兩種殺蟲劑的使用，均可以引起 Q 型生物小種產生抗性，導致 Q 型生物小種能夠在這些使用殺蟲劑的地區存活 (Horowitz *et al.*, 2005)。

聖誕紅溫室環境中，因為 Q 型生物小種，具有較高的殺蟲劑抗性，對於熱和乾燥也有較好的耐受度，所以在溫室中歷經殺蟲劑，以及環境的人為選汰 (artificial selection)，亦可以競爭取代 (competitive displacement) B 型生物小種，成為優勢小種 (Horowitz *et al.*, 2005; Dalton, 2006)。長期的施用農藥，容易使煙草粉蝨產生抗藥性，在去除農藥選汰的壓力後，B 型生物小種的抗藥性則會急遽下降，然而 Q 型生物小種對於部分農藥，具有穩定的抗藥性，如新尼古丁類藥劑，即使不再持續使用，Q 型生物小種仍然可以延續數個世代具有抗性基因 (Rauch and Nauen, 2003)。此外，Q 型生物小種相對於 B 型生物小種，對於極端的溫度有較高的耐受性，在歐洲有逐漸向北擴散的現象，在野外也有較高的存活率 (Bonato *et al.*, 2007; Dalmon *et al.*, 2008)。

四、生物入侵 (biological invasion)

外來入侵物種 (alien invasive species) 是指從自然分布區通過有意或無意的人類活動而被引入、在當地的自然或半自然生態系統中建立族群、給當地的生態系統或景觀造成損害或影響的物種。生物的入侵事件，有三種主要的因素：(一) 人為的活動，導致生物的遷入，如：貿易和放生。(二) 入侵者本身遺傳條件改變，更適合入侵的環境。(三) 環境的改變，造成生物的遷移，如：全球暖化 (global warming) 和溫室 (glasshouse)，使得原本只出現在熱帶地區的生物，可以往北遷移至亞熱帶或溫帶 (Kiritani, 2006)。目前 Q 型生物小種，也隨著聖誕紅花卉，快速的在各個國家之間擴散，由於人為的活動和貿易，成為一個聖誕節的入侵害蟲 (the Christmas invasion) (Dalton, 2006)。此外，人類為了花卉良好的培育環境所興建的溫室，使 Q 型生物小種可以擴散到緯度更高的地方 (Dalmon *et al.*, 2008)。

選汰壓下，物種適應環境的方式分為 K- 策略者 (K-strategist) 與 r- 策略者 (r-strategist)，煙草粉蝨屬於 r- 策略者，具有生殖率高、發育快速、個體小、生活史短的特性，族群的密度變動大，即使少數個體，因有迅速增殖的能力，只要經過少數世代，即可達高密度的族群數量。煙草粉蝨同時具有隨著寄主植物擴散和遷移能力。這些適應生境的對策，使煙草粉蝨成為成功的入侵生物。

以入侵生物危害程度而言，中國是目前世界上受害最嚴重的國家。根據統計入侵中國的外來物種有 400 多種，其中造成嚴重危害的有 100 多種，而國際自然保育聯盟所公布的百大入侵種中，中國地區調查記錄已有 50 多種，外來入侵種的問題已經受重視，尤其近年來，已經觀察到入侵生物種的入侵數量增多、入侵頻率加快、蔓延範圍擴大、發生的危害加劇以及經濟損失加重等趨勢，且中國在加入 WTO 後，所面對的外來生物種的入侵問題更加嚴厲 (chu *et al.*, unpublished)。

入侵成功的生物通常具有比較高的環境適應力，分布廣泛的結果導致難以推測地理位置及入侵來源 (Lodge, 1993)，因此，外來種入侵後的生物學研究，著重在物種的入侵來源、傳播途徑、寄主，選擇有效的化學殺蟲劑、天敵，以及了解入侵後生物學特性的變化，上述的研究對於提出有效的控制策略均有重要的意義。分子生物學，近年來快速的發展，除對演化生物學提供有力的證據，對於入侵生物的管理亦能提供防治策略 (Le Roux and Wiczorek, 2009)。紅火蟻的入侵與偵測中，透過遺傳結構的檢視，嘉義和桃園的族群最有可能從美國入侵，但由於族群間分子遺傳變異相當顯著，推測臺灣地區至少發生兩次獨立之入侵事件，入侵來源最有可能是由美國入侵，但來自於美國境內的不同入侵源 (Yang *et al.*, 2008)。

煙草粉蝨 B 型生物小種，在 1980 年代即藉由聖誕紅的貿易擴散到全世界，並造成嚴重的危害，在入侵的過程中，B 型生物小種存在著非對稱性的交配互動，使煙草粉蝨可以很快速在新棲地建立族群，煙草粉蝨的性別決定機制為單雙套系統，入侵的生物小種會增加交配頻率，使卵受精率增加以產生大量雌性子代，同時入侵生物小種的雄性，亦會干擾本土生物小種的交配行為，使本土生物小種的交配率和卵受精率下降，使後代雌性減少，並在 3~5 年的時間完成競爭取代 (Liu *et al.*, 2007)。國際自然保育聯盟 (International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources, IUCN) 亦將煙草粉蝨列為世界百大入侵生物種之一 (<http://www.iucn.org>)。

五、粒線體 DNA 在煙草粉蝨之研究

DNA 序列是研究生物演化歷史的重要工具之一 (Nei and Kumar, 2000)。昆蟲的粒線體 DNA 為環狀的 DNA 分子，長度約為 16~20kb 左右。粒線體 DNA 具有以下特點：(一) 母系遺傳無重組過程，常做為親緣關係的分析；(二) 單套染色體，無基因重組的過程，遺傳差異僅來自於基

因突變；(三) 某些類群物種，突變的速率比核 DNA 快，適合做為生物小種及近緣種群的研究。

粒線體 DNA 常用來計算族群之間的遺傳差異推測親緣關係。針對烏干達所發現的兩個煙草粉蝨族群做研究，發現與 B 型生物小種之間有 8% 的遺傳差異，並推測族群為非 B 型的生物小種，而兩個族群也分別與尚比亞 (Zambia) 和喀麥隆 (Cameroon)，有高度的遺傳相關性，藉由此項證據推論兩個族群之間有不同的來源 (Legg *et al.*, 2002)。此外，粒線體 DNA 也被利用來研究煙草粉蝨的種群，結果發現煙草粉蝨是一個複合群，全球可分為 8 大群，分別為近撒哈拉沙漠區、新世界區、地中海區、中東區、亞洲一區、亞洲二區、澳洲區和大洋區，並推論 B 型生物小種由舊世界起源，發源地自於乾燥區之中東、阿拉伯半島或是北非等地區 (Frohlich *et al.*, 1999; De Barro *et al.*, 2000)。最近的研究，利用粒線體 COI 序列進行貝氏分析，將全世界的煙草粉蝨分成 12 個遺傳群 (genetic groups)，分別是 Mediterranean/Asia Minor/Africa、Mediterranean、Indian Ocean、sub-Saharan Africa silverleafing (Q-related)、Asia I、Australia、China、Asia II、Italy、New World、sub-Saharan Africa non-silverleafing 和 Uganda sweet potato (Boykin *et al.*, 2007)。希臘的 Q 型生物小種雖然屬於 Mediterranean/Asia Minor/Africa 的遺傳群，但是粒線體的 DNA 可以發現，希臘的族群和摩洛哥、西班牙和葡萄牙的族群之間，有比較接近的親緣關係，而和東歐的國家土耳其、塞普路斯和以色列之間，則有比較遠的親緣關係 (Tsagkarakou *et al.*, 2007)。此外，日本最近對於本土採集的煙草粉蝨，進行粒線體的 COI 序列研究，並提出新的遺傳群，由於採集點分布於日本，相對於其他遺傳群有相當大的遺傳距離，因此將遺傳群命名為 JpL (Ueda *et al.*, 2009)。

由分子的角度，可從事親緣關係的探討，並且做為分類上的依據，解決形態上無法鑑定的問題。此外，COI 序列可做為分子標記 (DNA

marker)，設法解開物種起源、族群擴散和歷史入侵事件。利用 COI 序列，建立最小跨度網狀圖，比對單倍型與地理位置關聯性，探討擴散的過程，推論起源中心及分化的過程 (De Barro *et al.*, 2005)。以 Q 型生物小種為例，從遺傳多樣性的角度，發現法國、亞洲和美國的遺傳相似度很高，可能是短時間之內，經由人類的活動，而快速的擴散 (Dalmon *et al.*, 2008)。以粒線體 DNA 探討 Q 型生物小種的入侵事件，可以發現中國、日本和韓國之間，雖然存在地理隔離，但是卻同時具有相同的兩種單倍型，推測亞洲區的 Q 型生物小種是屬於近期多次入侵事件 (Hsieh *et al.*, 2007)。此外，由 GenBank 下載 Q 型生物小種的 COI 序列，也可提供不少資訊，利用鄰接法繪製親緣關係樹，研究中顯示可分為兩群；第一群分布在環地中海國家，包含摩洛哥、西班牙、阿爾及利亞、葡萄牙、希臘和法國，以及非地中海國家，包含荷蘭、中國、日本、美國和韓國。第二群分布在東地中海地區，包含以色列、塞浦路斯和美國。中國的 Q 型生物小種和第一群有較相近的親緣關係，而美國的 Q 型生物小種序列，有分別和第一群及第二群相近的親緣關係，顯示中國的 Q 型生物小種來自於環地中海國家，而美國的 Q 型生物小種，則有來自於地中海國家和東地中海地區的兩個不同入侵源 (Chu *et al.*, 2008)。日本對於 Q 型生物小種的研究，從 2004 年的調查結果只在 3 個縣有採集記錄，但是至 2008 年為止，已經在 36 個縣有採集記錄，顯示 Q 型生物小種在日本已經迅速的在野外建立族群，並擴散至本州和九州各地，根據粒線體 COI 序列的研究，初步推斷是經由國際間的貿易行為入侵日本，但是入侵的來源及路徑尚不清楚 (Ueda *et al.*, 2009)。

六、微衛星 DNA 在煙草粉蝨之研究

由於分子遺傳學快速發展，以及分子生物技術的廣泛運用，已經可以應用在昆蟲生態保育和蟲害的管理，微衛星 DNA 廣泛分布在真核生物基

因組中，它是短小的 DNA 重複片段，通常重複 1~6bp，因為其具有高度多型性，且符合孟德爾遺傳定律的特性，所以成為探討遺傳結構、親緣地理及族群擴散的重要工具。而且由於突變速率快、具有多型性，所以常用於入侵物種的研究 (Le Roux *et al.*, 2009)。

微衛星 DNA 在煙草粉蝨的研究，開始於兩組研究人員，分別從各種不同生物小種的煙草粉蝨基因組中，篩選出 15 個和 10 個引子用來增幅微衛星基因座 (De Barro *et al.*, 2003; Tsagakou and Roditakis, 2003)，以及從 B 和 Q 型生物小種篩選出來的 8 個引子對 (Delatte *et al.*, 2006)。接著 (De Barro *et al.*, 2005) 利用 15 對引子增幅微衛星 DNA 研究亞洲太平洋地區煙草粉蝨的遺傳結構，發現這個地區的煙草粉蝨可區分成 6 群，相鄰的群之間，因為長時間的地理隔離和生殖隔離，已有遺傳差異存在。此外，對於地中海地區的 Q 型生物小種進行研究，由 De Barro 所設計的 15 組引子對中，挑選其中 6 組適用於 Q 型生物小種的引子對，以微衛星 DNA 進行親緣關係的分析，發現地中海地區的伊比利亞半島、義大利和以色列的族群之間，都存在非常小的遺傳差異，所以難以推論入侵來源以及擴散方向。北非加那利群島 (Canarian Island) 和相鄰的摩洛哥 (Morocco) 由於海洋的地理隔離，限制基因交流 (gene flow) 而有較大的遺傳距離 (Simon *et al.*, 2007)。顯示地中海地區 Q 型生物小種，並不符合隔離分化的模式，可能透過人為的貿易或活動，而迅速的向其他國家擴散。

儘管煙草粉蝨經由人為的方式，可以迅速的擴散到全世界，但自然的擴散能力卻很小。利用 Tsagakou and Roditakis 所設計的 10 組引子對，挑選其中 4 組，再加上新設計的 2 組引子對，檢測希臘南方島嶼 (Crete) 上的兩個族群，基因流動 (gene flow) 的方式，即使相距只有數公里遠，基因流動卻很低，有遺傳上的差異，結果顯示兩個族群間，並沒有雜交的事件，且在 2002 年對於島嶼上的 14 個族群做檢測，發現全部都為 Q 型

生物小種，即使只有數公里的距離，都有很大的遺傳距離 ($F_{ST} > 0.2$)，顯示 Q 型生物小種在希臘南方的 Crete 島，已經有長時間的演化歷史 (Tsagkarakou *et al.*, 2007)。

最近，針對法國溫室裡的煙草粉蝨族群做研究，大部分溫室皆可調查到 Q 型生物小種，對於 7 個 Q 型生物小種的族群，由 De Barro 等人、Tsagkakou and Roditakis 和 Delatte 等人所發表的引子對，挑選 8 對做遺傳分化的探討，發現雖然溫室之間的距離相距 600 公里，但是卻只有很小的遺傳差異存在，而且各個溫室之間的遺傳差異，並沒有隨著地理距離相關，反而都只有很小的遺傳差異，由遺傳結構來看，亦無法將各個族群做分群，而是呈現混合的狀況，顯然各個溫室之間有頻繁的基因交流，由於冬季法國溫室外的環境並不適合煙草粉蝨的生長，所以各個溫室之間，基因交流顯然不是由自然的擴散所造成，成因可能是因為花卉的買賣，導致煙草粉蝨在各個溫室之間擴散 (Dalmon *et al.*, 2008)。

七、臺灣地區 Q 型生物小種之研究

自 2001 年，針對臺灣地區煙草粉蝨展開調查工作，到 2005 年為止，僅偵測到 B、An 和 Nauru 三型生物小種，根據族群遺傳的研究，利用親緣關係樹的建立，發現 B 型生物小種是近期隨著人為活動入侵臺灣，且有多次入侵的現象，An 和 Nauru 型生物小種，由遺傳歧異度推測，為早期的自然擴散進入臺灣地區 (Hsieh *et al.*, 2006)。

2006 年 2 月，臺南的善化亞洲蔬菜中心被偵測到 Q 型生物小種，根據 COI 序列的定序和比對，臺南善化的族群中只有一個單倍型，由於在 2005 年以前並無 Q 型生物小種的採集記錄，根據單倍型的粒線體 DNA，推測是近期單一的入侵事件 (Hsieh *et al.*, 2007)。在 2006 年 2 月到 2008 年 7 月，全面採集臺灣地區煙草粉蝨 481 筆資料，在宜蘭、桃園、苗栗、南投、臺南的 9 個聖誕紅溫室內發現 6 筆未知的生物小種，

經專一性引子鑑定後確認為 Q 型生物小種 (Hsieh *et al.*, 2008)。臺灣地區之 Q 型生物小種目前僅在溫室發現，尚未在野外偵測到，屬於入侵初期尚未建立可自我維持的族群，因此目前定位為外來生物，預期有高風險性成為入侵有害生物 (Hsieh *et al.*, 2008)。



參、材料與方法

一、標本的採集及保存

臺灣地區聖誕紅的產地主要分布在桃園縣、苗栗縣卓蘭、南投縣埔里等地，採集點選定臺灣 7 個溫室族群，包括桃園縣復興 (TTF)、桃園縣觀音 (TTG)、苗栗縣卓蘭 (TMJ)、南投縣埔里 (TNP)、臺南縣善化 (TTS)、宜蘭縣三星、宜蘭市 (TYY) 等地點 (圖一)。由於臺南縣善化的溫室在 2007 年 12 月時採集時已無發現 Q 型生物小種，其餘桃園縣復興、桃園縣觀音、苗栗縣卓蘭、南投縣埔里、宜蘭縣三星、宜蘭市各族群，在 2007 年 12 月、2008 年 4 月、2008 年 8 月和 2008 年 12 月分別做 4 次採集調查，將採集到的煙草粉蝨浸泡於 95% 酒精，置於 -4°C 冷凍櫃保存。這段期間同時做野外及臺北內湖花市的採集調查，偵測 Q 型生物小種，是否有擴散至野外。並向國外專家交換或索取煙草粉蝨 Q 型生物小種 95% 酒精浸液樣本 (表一)，國外樣本採集分布於環地中海地區，包含荷蘭採集自觀賞花卉的溫室族群 (FNE)、西班牙兩個農作物上的族群 (FSPA 和 FSPB)、希臘野外的族群 (FGRM)、以及自希臘南方島嶼 Crete 島上採回自實驗室飼養族群 (FGRL)，另外尚有塞普路斯 (FCP) 和以色列 (FIS) 的兩個族群。東北亞的樣本，有採集自中國山東省棉花作物的族群 (FCH)，以及日本九州的兩個野外族群，一個是國外學者所提供 (FJPA)，另一個族群是實驗室在九州熊本市的採集調查 (FJPB)，韓國的樣本採集自首爾附近的二處聖誕紅溫室 (FKOA 和 FKOB)，以及在大田市野外雜草採集到的族群 (FKOC) (圖二)。

二、萃取基因組 DNA

將粉蝨自酒精中取出，以二次蒸餾水清洗，將酒精去除，並取 1 雌性煙草粉蝨個體置於 1.5 ml 離心管中，加入 10 μ l lysis buffer (50mM KCl, 10mM Tris pH 8.4, 0.45% Tween 20, 0.2% gelatin, 0.45% NP40, 60 μ g/ml

proteinase K), 利用磨蟲棒將蟲體磨碎, 再加入 15 μ l lysis buffer 混和均勻。以 65 $^{\circ}$ C 水浴 40 分鐘, 離心將溶液集中, 再至入 100 $^{\circ}$ C 水浴 10 分鐘, 冷卻至室溫後, 加入 25 μ l 二次蒸餾水混和均勻, 置於 -20 $^{\circ}$ C 保存 (De Barro and Driver, 1997)。

三、測定生物小種

根據 Ko *et al.* (2007) 所使用之專一性引子組 (表二), 測定煙草粉蟲之生物小種。

PCR 的反應條件中, 包含 DNA 萃取液 1 μ l, 2U Taq DNA polymerase、10X Taq buffer 2.5 μ l、2.5mM dNTP 2 μ l、10mM forward primer 1 μ l、10mM reverse primer 1 μ l, 最後再加入 ddH₂O, 使總體積為 25 μ l。PCR 反應條件為 (1) 預熱 (prewarm) 94 $^{\circ}$ C/5 分鐘, (2) 進行 35 個循環之變性 (denaturing) 94 $^{\circ}$ C/1 分鐘、黏合 (annealing) 56-64 $^{\circ}$ C/1 分鐘、延伸 (extension) 72 $^{\circ}$ C/1 分鐘, (3) 再經延伸 (final extension) 72 $^{\circ}$ C/5 分鐘完成反應。將 PCR 增幅的產物, 以 2% 的瓊脂電泳膠片進行電泳檢視, Q 型生物小種 DNA 序列可增幅出 892bp、700bp、400bp 片段產物, 而 B、An、Naura 型生物小種可以分別增幅出 649bp、564bp 和 666bp。用以判定為何種型生物小種之煙草粉蟲。

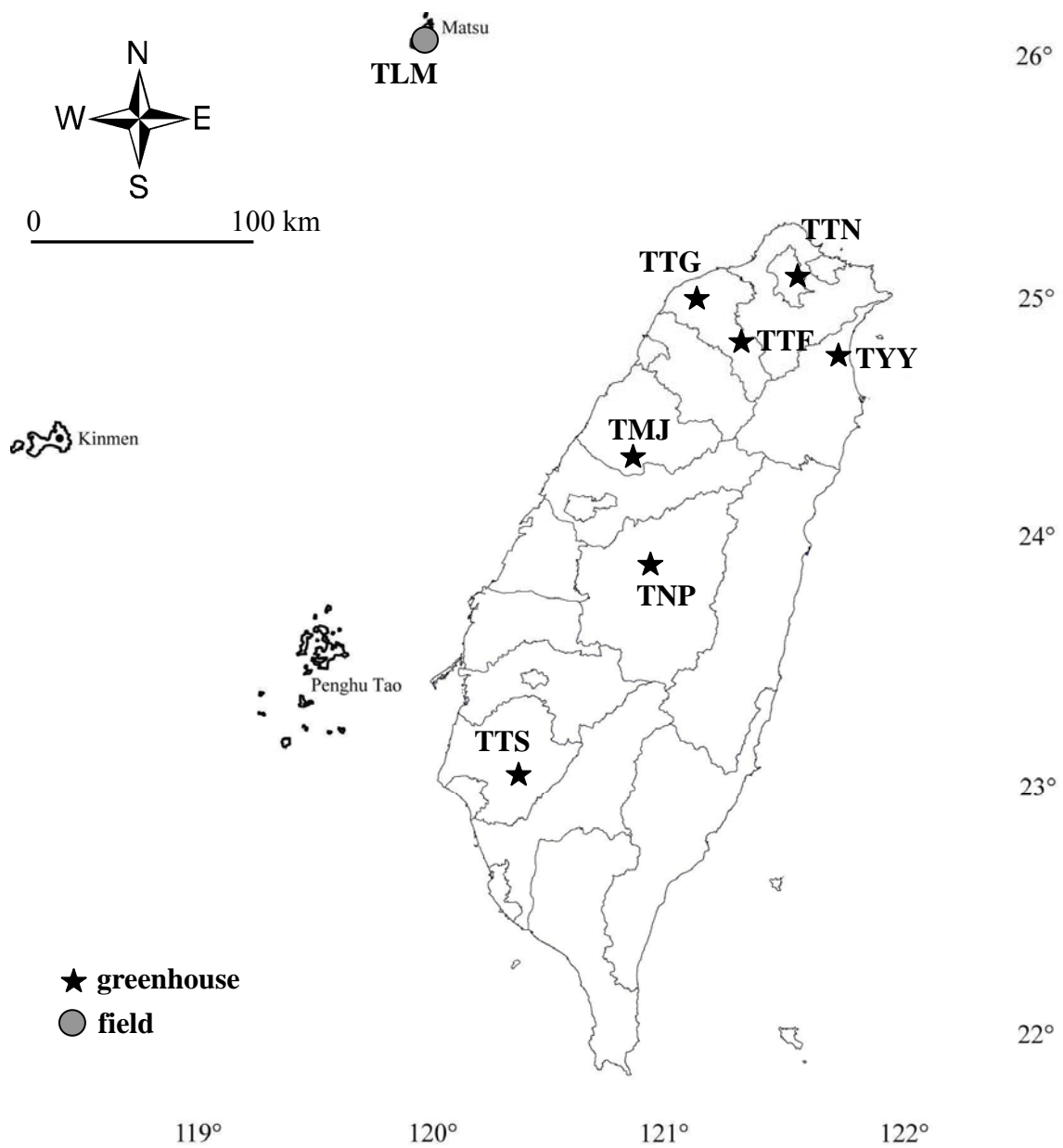
四、粒線體 (Mitochondrial) COI 基因序列之資料分析

對於 Q 型生物小種進行 COI 序列分析, 採集與交換所獲得的 13 個國外族群, 以及在臺灣地區採集到的 23 個族群 (包含馬祖), 隨機挑選三隻進行粒線體 COI 基因序列之定序, 定序的方式根據 Frohlich *et al.* (1999) 所使用之引子組, C1-J-2195 (5'-TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT-3') / L2-N-3014 (5'-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3')。增幅出大約 820bp COI 序列。PCR 反應條件為 94 $^{\circ}$ C/5 分鐘, 然後進行 35 個循環之 94 $^{\circ}$ C/1

表一 供試煙草粉蝨 Q 型生物小種樣本

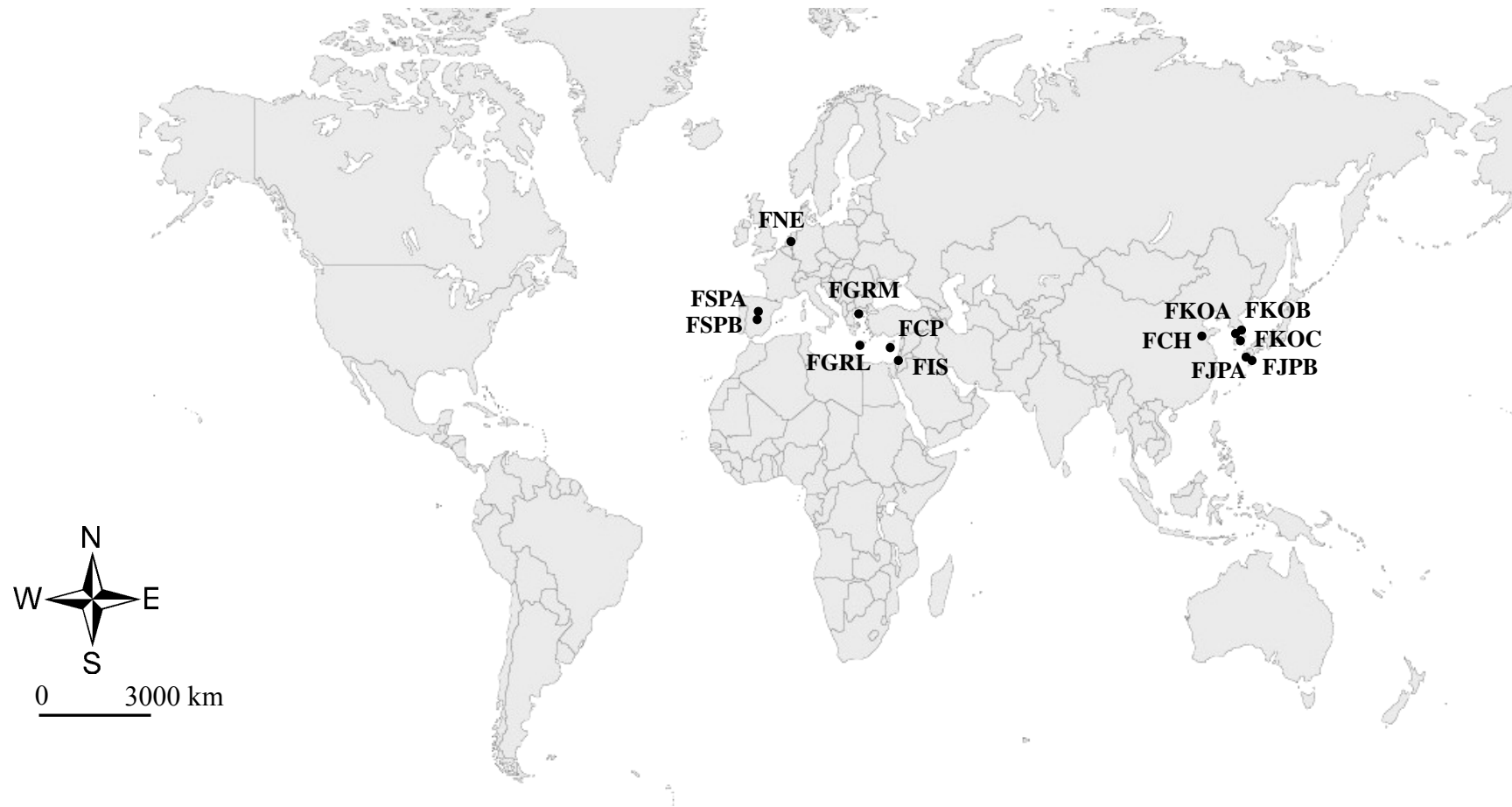
Table 1. Sample of *Bemisia tabaci* biotype Q used in this study

| Sample sources | Name | Location | Host plant | Date |
|----------------|------|--------------------------------|----------------------|----------|
| Global | | | | |
| | FNE | Netherlands | Hibiscus, greenhouse | 2002 |
| | FSPA | Spain | Cucumber | 2003 |
| | FSPB | Spain | Tomato | 2003 |
| | FCP | Cyprus | - | 2004 |
| | FJPA | Kyushu Island, Japan | Sweet pepper | 2005 |
| | FJPB | Kumamoto, Kyushu Island, Japan | pilose beggarticks | 2008 |
| | FIS | Israel | - | 2006 |
| | FCH | Shandong, China | Cotton | 2007 |
| | FGRM | Agrinio, Mainland Greece | Cucumber | 2004 |
| | FGRL | Crete, Greece | Cucumber | 2006 |
| | FKOA | Goyang-Si, Kyeonggi-do, Korea | Poinsettia | 2008 |
| | FKOB | Goyang-Si, Kyeonggi-do, Korea | Poinsettia | 2008 |
| | FKOC | Yuseong, Daejeon, Korea | Black nightshade | 2008 |
| Taiwan | | | | |
| | TTSA | Shanhua, Tainan | Poinsettia | Feb-2006 |
| | TTSB | Shanhua, Tainan | Poinsettia | Jul-2007 |
| | TMJA | Jhuolan, Miaoli | Poinsettia | Apr-2006 |
| | TMJB | Jhuolan, Miaoli | Poinsettia | Dec-2007 |
| | TMJC | Jhuolan, Miaoli | Poinsettia | Apr-2008 |
| | TMJD | Jhuolan, Miaoli | Poinsettia | Aug-2008 |
| | TMJE | Jhuolan, Miaoli | Poinsettia | Dec-2008 |
| | TTGA | Guanyin, Taoyuan | Poinsettia | Dec-2007 |
| | TTGB | Guanyin, Taoyuan | Poinsettia | Aug-2008 |
| | TTGC | Guanyin, Taoyuan | Poinsettia | Dec-2008 |
| | TNPA | Puli, Nantou | Poinsettia | Dec-2007 |
| | TNPB | Puli, Nantou | Poinsettia | Apr-2008 |
| | TNPC | Puli, Nantou | Poinsettia | Aug-2008 |
| | TNPD | Puli, Nantou | Poinsettia | Dec-2008 |
| | TYYA | Yilan City | Poinsettia | Jan-2008 |
| | TYYB | Yilan City | Black nightshade | Apr-2008 |
| | TYYC | Yilan City | Poinsettia | Aug-2008 |
| | TYYD | Yilan City | Poinsettia | Dec-2008 |
| | TTFA | Fusing, Taoyuan | Poinsettia | Apr-2008 |
| | TTFB | Fusing, Taoyuan | Poinsettia | Aug-2008 |
| | TTFC | Fusing, Taoyuan | Poinsettia | Dec-2008 |
| | TTN | Neihu, Taipei | Poinsettia | Oct-2008 |
| | TLM | Matsu, Lienchiang | Watermelon | Nov-2008 |



圖一 臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種採集位置圖。

Fig 1. Sampling locations of *Bemisia tabaci* biotype Q in Taiwan.



圖二 國外煙草粉蝨 Q 型生物小種採集位置圖。

Fig 2. Sampling locations of *Bemisia tabaci* biotype Q in the world.

表二 煙草粉蝨生物小種專一性引子組序列及其黏合溫度

Table 2. Primers and annealing conditions for identifying different biotypes of

Bemisia tabaci

| Biotype | | Primer | Annealing temp (°C) |
|---------|-----------|----------------------------------|---------------------|
| Q | BaQF | 5'-GAAGCAACGCACTACTTACAA-3' | 56°C |
| | BaQR | 5'-TTCTCGGCGTTTTTACCAA-3' | |
| B | BaBF | 5'-CCACTATAATTATTGCTGTTCCCACA-3' | 60°C |
| | L2-N-3014 | 5'-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3' | |
| An | BaAnF | 5'-GGTTATTGCTGTTCCAAGTGGG-3' | 64°C |
| | L2-N-3014 | 5'-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3' | |
| Naura | BaNaf | 5'-GGCTTTGGTTTACTGGATTCTTTT-3' | 62°C |
| | L2-N-3014 | 5'-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3' | |



分鐘、52°C/1 分鐘、72°C/1 分鐘，最後再經 72°C/5 分鐘完成反應。將 PCR 增幅的產物，以 2% 的瓊脂電泳膠片進行電泳檢視。PCR 增幅出的產物送至生技公司，利用自動定序儀 (ABI PRISM™) 進行雙股定序。

1. 序列之比對與排序

將定序所得的正反股序列，利用 GeneDoc 軟體進行序列校正，整合成完整的正股序列。並使用 NCBI 網頁之 GenBank 中的 BLAST 功能進行序列比對，再次確認生物小種。另外由 GenBank 下載，相關的 Q、B、Ms 型生物小種的 COI 序列，與臺灣所採集的 Q 型生物小種 COI 序列，利用 Tsagkarakou *et al.* (2007) 建議使用的 Clustalx 1.81 軟體進行比較分析。紫背草唇粉蝨 (*Lipaleyrodes emiliae*) COI 序列做為外群 (outgroup) (Hsieh *et al.*, 2007)。

2. 親緣關係樹之建立與信賴程度的統計檢驗

族群遺傳結構會受到突變 (mutation)、遺傳漂變 (genetic drift) 與選汰 (selection) 的作用而改變，並反映在分子的層次。族群內的遺傳變異度有許多種估算方式，如基因多樣性 (gene diversity)、異型合子的比例 (heterozygosity)。採用粒線體 DNA COI 序列的基因多樣性，計算族群間的遺傳變異度，由同一原始族群經相同演化歷史形成遺傳結構，中性的遺傳變異受中性突變及隨機遺傳漂變之影響，因不受環境選汰作用而可用來推測分歧時間。本研究利用距離方法 (distance matrix method) 建立親緣關係樹，首先獲得所有分類群間的遺傳距離，親緣關係樹的建構則基於這些距離值之間的關係。鄰接法 (Neighbor-joining method, NJ) 基於最小遺傳距離原理，假設物種進化速率不一致 (Saito and Nei, 1987)。將所有樣本序列兩兩比對，計算序列核苷酸位點替代數之實際值為遺傳距離值後，將序列間之遺傳距離排列成矩陣，依照此矩陣建立一棵星狀樹。根據星狀樹，將所有分類群做潛在的鄰聚分析，選出分枝總合最短的群聚。計算群聚所有分

類群之間的距離，將同一分類群鄰接在一起，將所有分類群聚合成一棵樹。利用自展檢驗 (bootstrap test) 進行統計檢驗，由自展重複抽樣技術，計算每個分枝 clade 之 bootstrap 值，評估信賴程度 (Felsenstein, 1985)。NJ tree 以 MEGA4 (Tamura *et al.*, 2007) 軟體建構。

3. COI 序列在親緣地理學 (Phylogeography) 研究

親緣地理學為歷史性生物地理學 (Avice *et al.*, 1987)，主要是在探討基因譜系與地理分布以及與時間的關聯性，尤其是親緣關係接近的物種 (Avice, 2000)。製作最小跨度網狀圖 (Minimum Spanning Network)，將單倍型間核苷酸突變數，由差異小至大，依序連接串聯成一網狀圖，並結合地理分布資訊，可知單倍型關聯性與地理分布之關係。利用 Arlequin ver 2.0 軟體分析所得資訊，並使用繪圖軟體製作最小跨度網狀圖。

五、微衛星基因座的增幅與資料分析

微衛星 DNA 運用在族群遺傳的研究上，具有以下幾個特點：(一) 在真核生物基因組中，存在大量的微衛星 DNA。(二) 高度多型性 (Polymorphism) 且突變速率快，微衛星 DNA 基因座，同時包含數十個的等位基因，這樣的多型性有利於進行演化與族群遺傳研究，特別是近期入侵的生物 (Le Roux and Wiczorek, 2009)。(三) 突變速率快。微衛星 DNA 序列包含重複序列 (repeat sequences) 與兩端非重複序列 (flanking regions) 兩部分。重複序列多由 1~6bp 大小的重複單元，重複 5 次以上所組成，且由於減數分裂期間，容易在 DNA 複製時出現滑動 (slippage) 現象，使微衛星 DNA 序列的突變率比一般序列高，且不同基因型之間的差異，主要來自重複序列的重複次數不同 (Goldstein and Schlotterer, 2000)。在突變速率的差異上，酵母菌每一個基因座的每一次複製，其微衛星 DNA 的突變率介於 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ 之間 (Strand *et al.*, 1993)，人類的微衛星 DNA 的突變率約為 10^{-2} (Weber and Wong, 1993)，而昆蟲中的果蠅 (*Drosophila*) 的

突變率約為 6.3×10^{-6} (Schug *et al.*, 1997)。在時間的尺度上，粒線體可以研究 $10^5 \sim 10^2$ 年之間的演化事件，相較於粒線體 DNA 無法有效區別的族群，微衛星 DNA 可以研究的範圍約在 $10^3 \sim 10^1$ 年之間的演化事件，在時間尺度上具有較大的優勢 (Grant and Waples, 2000)。(四) 等位基因表現出共顯性遺傳：微衛星 DNA 遵守孟德爾遺傳定律，來自於父方及母方的微衛星 DNA 都可同時被偵測到 (Hearne *et al.*, 1992)，所以可以做為親緣分析的分子標誌。

根據 De Barro *et al.* (2003)、Tsagkarakou and Roditakis (2003)、Delatte *et al.* (2006) 以及 Tsagkarakou *et al.* (2007)，所使用之引子組，挑選出 12 組並分別標定 4 種不同的螢光 (Del-53、Bem15、BT-e49) FAM、(Bem6、BT-b159、Bem23) NED、(Bem37、BT-83、Bem21) PET 和 (Bem31、BT-b155、BT-4) VIC (表三)，進行 Multiplex PCR 增幅出微衛星 DNA 基因座。PCR 的反應條件中，包含 DNA 萃取液 1 μ l，0.5U hot start Taq DNA polymerase，10X Taq buffer 1 μ l，2.5mM dNTP 1 μ l 及 10mM forward primer 2.4 μ l、10mM reverse primer 2.4 μ l，最後再加入 ddH₂O，使總體積為 10 μ l。Multiplex PCR 反應條件為 95 $^{\circ}$ C/10 分鐘，然後進行 35 個循環之 95 $^{\circ}$ C/40 秒、54 $^{\circ}$ C/40 秒、72 $^{\circ}$ C/40 秒，最後再經 72 $^{\circ}$ C/30 分鐘完成反應。Multiplex PCR 增幅的產物，以 2.5% 的瓊脂電泳膠片進行電泳檢視是否有 PCR 的增幅產物。Multiplex PCR 增幅的產物，送至生技公司，以 ABI3100 DNA 分析儀進行基因型判定 (genotyping)，檢視 12 個基因座長度大小。本研究依序列長度挑選 12 組引子對，利用 4 種不同的螢光進行標記，使基因座的增幅可使用 Multiplex PCR，基因型的判讀也可一次完成，降低實驗的成本。判讀的方式利用 GENESCAN 3.1.2 軟體進行。

1. 遺傳變異 (Genetic variation) 之分析

計算聖誕紅溫室族群在不同時期，以及各國樣本之間基因座上的對偶

基因頻率分布，並估算變異度；即對偶基因數 (number of alleles)、異型合子比例 (heterozygosity)、以及基因歧異度 (gene diversity)。異型結合子的比例計算分為異型合子觀測值 (H_O , Observed heterozygosity) 以及異型合子期望值 (H_E , Expected heterozygosity) 的估算。觀測值可直接由樣本異型合子比例算出。異型合子期望值則採用 Nei (1978) 所提出的無偏估值 (Unbiased heterozygosity) 算出單一基因座異型合子期望值，再由各基因座之異型合子期望值相加平均後，求得平均異型合子期望值。公式之計算以 GENEPOP Version 3.4 程式進行運算 (Yeh and Boyle, 1997)。單一基因座異型合子期望值 (h) 之計算如下：

$$h = \frac{2n(1 - \sum_{i=1}^n P_i^2)}{2n - 1}$$

n ：樣本數；

P_i ：族群內第 i 種等位基因型之頻率。

平均異型合子期望值 (H_E) 之計算如下：

$$H_E = \frac{\sum_{i=1}^r h_i}{r}$$

r ：基因座總數；

h_i ：平均異型合子期望值。

此外，檢測各個基因座是否獨立於另一個基因座，避免不同基因座來自相同染色體所產生的偏估，利用 GENEPOP Version 3.4 程式進行基因座間連鎖不平衡 (linkage disequilibrium) 測試。

2. 族群哈溫平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium) 檢測

一個隨機交配的族群，除非有外力的作用，否則其等位基因出現的頻



表三 供試之煙草粉蝨微衛星基因座之引子組

Table 3. Characteristics of microsatellite loci in biotype Q of *Bemisia tabaci*

| Locus | Primer sequence | Allele range | <i>A</i> | <i>H_E</i> | <i>H_O</i> | Repeat motif | Reference |
|---------|--------------------------------------------------------|--------------|----------|----------------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Del-53 | F: TTCGTAACGTCTTTAAATTTTTGC R: TGGAGCATATGCCTTTTTGG | 133-157 | 13 | 0.731 | 0.600 | (GT) ₂₀ | Delatte <i>et al.</i> (2006) |
| Bem15 | F: AGCAGCATCAACAGGCTC R: CTAGATTCTGCTTGAAAGG | 171-210 | 8 | 0.235 | 0.227 | (CAA) ₆ (CAG) ₄ (CAA) ₄ | De Barro <i>et al.</i> (2003) |
| BT-e49 | F: GATCGAATCCAATCTCCAC R: GAGCTCTGCAATACTGCCAA | 273-381 | 25 | 0.831 | 0.815 | (TTG) ₁₂ (TTC) ₁₁ | Tsagkarakou <i>et al.</i> (2007) |
| Bem31 | F: AAGAAGTAGCCAGGGACAAAC R: GTCATTTCTGGATTCTCAGCA | 104-122 | 4 | 0.467 | 0.453 | (TGG) ₄ (TTG) ₁ (TGG) ₃ (TTG) ₂ (TGG) ₂ | De Barro <i>et al.</i> (2003) |
| BT-b155 | F: ACATGTTTTCTTGTCGACT R: ATTAGTGTCTCGTTTCGATT | 167-199 | 6 | 0.438 | 0.398 | (CA) ₈ (CACCT) ₂ (CA) ₈ | Tsagkarakou & Roditakis (2003) |
| BT-4 | F: GAGATCATATCCCCATTGTTTC R: ATCACGGGTCATAGATCACG | 199-309 | 11 | 0.374 | 0.352 | (GT) ₃ (CA) ₈ | Tsagkarakou & Roditakis (2003) |
| Bem6 | F: TTACACTTAACACCAGAACT R: GATGGCTTATGTTATAATACTA | 195-223 | 7 | 0.333 | 0.009 | (CA) ₈ | De Barro <i>et al.</i> (2003) |
| BT-b159 | F: ACTCCATTTGGCTTATGTGC R: ATTATCGTCTGAAAAGTGGTGG | 267-293 | 10 | 0.527 | 0.496 | (AC) ₁₂ | Tsagkarakou & Roditakis (2003) |
| Bem23 | F: CGGAGCTTGCGCCTTAGTC R: CGGCTTTATCATAGCTCTCGT | 390-414 | 4 | 0.365 | 0.115 | (GAA) ₃₁ | De Barro <i>et al.</i> (2003) |
| Bem37 | F: TGACGACCTGAGGCTGAGAG R: TGCAACGGCAACAGCAAGCAA | 72-81 | 4 | 0.091 | 0.090 | (GCT) ₄ (GTT) ₂ | De Barro <i>et al.</i> (2003) |
| BT-83 | F: GATGCCACAGGTTGTCTGG R: GCTTGCCAGGCACTTTCTAG | 134-154 | 11 | 0.659 | 0.576 | (TC) ₇ G(CA) ₁₃ | Tsagkarakou & Roditakis (2003) |
| Bem21 | F: ATCAAGCAGCTGCTACACCT R: ATGCACTAGTTGTTAGTGCG | 130-262 | 26 | 0.812 | 0.805 | (CTTCCT) ₂ (CTT) ₉ | De Barro <i>et al.</i> (2003) |

A: total number of alleles found among all populations; *H_E*: expected heterozygosity; *H_O*: observed heterozygosity

率，在不同世代間維持不變，遵守此定律的族群須符合下列前提：(1) 隨機交配 (random mating) (2) 族群數量必須夠大 (large population size) (3) 沒有個體的移入或移出 (no migration) (4) 沒有突變發生 (no mutation) (5) 沒有天擇的作用 (no selection)。但事實上，大部分的生物族群都會受到上述不同演化機制的影響而發生改變。

為了檢測煙草粉蝨族群是否處於哈溫平衡的狀態，計算隨機交配下的基因型頻率期望值 (Expected genotypic frequencies)，再以 GENEPOP Version 3.4 程式進行運算，檢定族群內各基因座是否符合哈溫平衡的狀態 (Yeh and Boyle, 1997)。若基因座有偏離哈溫平衡的狀態，再利用 micro-checker v.2.2.0 軟體 (Van Oosterhout *et al.*, 2004) 檢測各個基因座是否有無效對偶基因 (null allele)，或基因型判讀錯誤的情況。

3. 微衛星 DNA 之族群分化指數 (F_{ST})

自然族群中，環境的隔離，使得原始族群分化成好幾個次族群。若各次族群間沒有基因互相交流，就會造成之間遺傳組成的不同，而分化指數的值也會越高。Q 型生物小種，目前在臺灣只生長在溫室的環境下，計算族群分化指數，可以知道各個溫室之間族群，是否因為環境的隔離而有分化的情況。根據 (Weir and Cockerham, 1984) 所修正的 Wright's F statistics 來表示族群間分化的指數。利用 GENEPOP Version 3.4 程式進行以下公式之檢測 (Yeh and Boyle, 1997)。

$$\text{族群分化指數 } (F_{ST}) = \frac{\delta_P^2}{\delta_P^2 + \delta_G^2 + \delta_I^2}$$

其中， δ_P^2 ：族群間對偶基因頻率均方期望值；

δ_G^2 ：對偶基因間對偶基頻率均方期望值；

δ_I^2 ：族群內對偶基因頻率均方期望值。

4. 微衛星 DNA 之族群近親交配指數 (F_{IS})

近親交配指數分析所有族群內異型合子偏離隨機交配預期的情況。使用 Weir and Cockerham (1984) 的方法，計算近親交配指數 (inbreeding coefficient)， F_{IS} 指數顯著偏離，表示族群內的個體交配不是隨機發生 (non-random mating)，族群的近親交配，可能使族群的遺傳多樣性降低，近親交配指數 (F_{IS}) 公式如下，並利用程式 FSTAT Version 2.9.3.2 進行分析 (Goudet, 1995)。在不符合哈溫的情況下，可進一步確認是否有近親交配的可能。

$$\text{近親交配指數 } (F_{IS}) = \frac{\delta_I^2}{\delta_G^2 + \delta_I^2}$$

5. 瓶頸效應 (Bottleneck effect) 檢測

當一個族群在經過一個巨大環境改變，造成大多數個體的死亡或限制了正常的生殖行為之後的遺傳結果，稱之為瓶頸效應，可能導致物種基因多樣性喪失。檢驗一個族群是否曾經經歷瓶頸，可利用下列二種方式。第一、眾位數偏移指標 (Mode-shift indicator)：在遺傳突變與漂變的長期作用下，穩定族群中存在較多的稀有對偶基因，因此微衛星基因座對偶基因的頻度分布會呈現 L 型分布，而當有效族群量下降時，稀有對偶基因會大量消失，造成基因座上對偶基因頻度分布偏離 L 分布 (Cornuet and Luikart, 1996)。第二、異型合子觀測值 (H_O) 與期望值 (H_E) 檢驗：當近期內有效族群的數量減低時，對偶基因的數目及基因多樣性皆會減少，但對偶基因數目減少的幅度又比異型合子比例減少的快 (Cornuet and Luikart, 1996; Luikart and Cornuet, 1998)，所以可以利用現在族群的對偶基因數目和頻度，利用族群異型合子比例 (H_O) 是否顯著小於符合哈溫平衡的族群所預期具有的異型合子比例 (H_E)，以推測族群是否遭遇瓶頸效應。

對偶基因突變有「Infinite allele model; IAM」、「Step-wise mutation

model; SMM」和「Two phased model; TPM」三種模式，其中 Infinite allele model 是針對同功異構酶而提出的突變模式，認為對偶基因的突變率低，突變產生的對偶基因未曾出現在族群中，而且每一種新的對偶基因，都和突變前的對偶基因形式無關，但是微衛星 DNA 的突變速率快，每一種新的對偶基因是由原本的對偶基因增減一個至數個重複單元，突變後的對偶基因長度可能和族群內原有的對偶基因相同，因此不符合 Infinite allele model。隨後有學者提出以 Step-wise mutation model 較符合微衛星 DNA 的突變模式，每一次的突變增加或減少一個重複單元，並提出估算族群間分化程度或遺傳距離的方法 (Slatkin, 1995)，但這項計算方式忽略微衛星 DNA 突變方式可能包含兩個以上重複單元的突變 (Multistep mutations)。因此，最近的學者則建議採用 Two phased model，以差距一個重複單元突變 (Single-step mutations) 為基本模式，並同時考慮差距兩個以上重複單元的突變，用來估算族群是否經歷近期的瓶頸效應 (Garza and Williamson, 2001; Simon *et al.*, 2007)。

入侵生物在入侵的過程中，經歷瓶頸作用，可能導致遺傳多樣性降低。本研究計算各個族群內異型合子的比例 (H_O)，是否顯著小於穩定族群之異型合子比例的期望值 (H_E)，同時檢測對偶基因頻度是否偏離 L 型分布。微衛星的演化模式設定，將差距一個重複單元的突變的比率設為 90%，差距兩個以上重複單元突變的比率設為 10%，重複運算 1000 次建立異型合子的期望值，並以 Wilcoxon test 來檢定異型合子是否過量。當有效族群在近期內大規模縮小，具有多型性的微衛星基因座，對偶基因的數量會顯著下降，使異型結合子的觀測值小於期望值 ($H_O < H_E$)，若台灣地區內各煙草粉蝨族群，偶基因的多樣性無明顯下降，且異型結合子的觀測值和期望值並無差異，則可推測煙草粉蝨族群皆無族群量顯著下降的狀況。瓶頸效應檢測利用 BOTTLENECK (Cornuet and Luikart, 1996; Piry *et al.*, 1999) 軟體

進行。

6. 計算遺傳距離 (Genetic distance) 與建構親緣關係樹 (Phylogenetic tree)

遺傳距離 (Genetic distance) 可表示不同族群間遺傳結構的差異程度與親疏關係。計算兩兩不同族群間樣本的遺傳距離 (D_{AS})，以了解各個聖誕紅溫室之間，以及國外煙草粉蝨的遺傳相似度。遺傳距離 (D_{AS}) 計算方式 (Chakraborty and Jin, 1993) 如下：

$$D_{AS} = 1 - \frac{2\bar{P}_{SAkm}}{\bar{P}_{SAk} + \bar{P}_{SAm}}$$

其中， \bar{P}_{SAkm} ：族群間個體分享對偶基因的平均比例；

\bar{P}_{SAk} ：k 族群內個體間分享對偶基因的平均比例；

\bar{P}_{SAm} ：m 族群內個體間分享對偶基因的平均比例。

D_{AS} 計算之後，以鄰接法 (Neighbor-joined method) (Saitou and Nei, 1987) 的原理利用 Populations 1.2.30 軟體建構親緣關係樹，並進行 1000 次 bootstrapping (Felsenstein, 1985)，建構最理想親緣關係樹。

7. 貝氏族群遺傳結構分析

檢視族群內之分群狀況，基本假設是同一分群內各基因型的頻度符合哈溫平衡，且各個基因座之間屬於連鎖平衡 (linkage equilibrium) 利用貝氏分群分析 (Bayesian clustering analysis)，研究族群之間遺傳組成的相似度，利用 12 個微衛星基因座的變化和差異，將個體分群，遺傳結構相似度高的，會被歸為同一個分群 (cluster)，並利用 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) 演算法重複分群，統計個體分配到各群的機率，推估最可能的結果。

進行分群檢驗時，假設所有樣本皆由同一群祖先繁衍而來，在 Structure 2.1 程式中，之先祖模式 (Ancestry model) 及對偶頻度模式 (Allele

frequency model), 分別選取混合模式 (Admixture model) 及相關模式 (Correlated model), 進行 7×10^5 次 MCMC 演算, 先 Burnin 3×10^5 次, 之後開始收集 4×10^5 次 MCMC 演算的結果, 分群值設為 1 到 10, 每個分群值重覆演算 4 次 (Pritchard *et al.*, 2000)。根據演算的結果, 選出 ΔK 值最大, 且 $\Delta K > 1$ 為可信度最高的分群方式 (Evanno *et al.*, 2005), 計算公式如下:

$$\Delta K = \frac{m | L(K+1) - 2L(K) + L(K-1) |}{s [L(K)]}$$

$L(K)$: MCMC 演算的結果取 log-likelihood 值;

m : 重覆數;

$s [L(K)]$: 標準差估算值。



肆、結果

一、臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種採集和分布情形

全面採集臺灣地區煙草粉蝨，時間自 2008 年 8 月至 2008 年 12 月，包括臺灣本島、馬祖和金門，共採集 310 筆，在記錄中僅有 7 個地點檢查到 Q 型生物小種，1 筆在野外，6 筆在溫室。其中桃園縣復興 (TTF)、桃園縣觀音 (TTG)、苗栗縣卓蘭 (TMJ)、南投縣埔里 (TNP)、宜蘭市 (TYY) 等 5 個聖誕紅溫室有持續的採集記錄 (附錄一)。在 2008 年 10 月臺北內湖花市 (TTN) 亦調查到 Q 型生物小種，業者稱植株聖誕紅的來源為南投的埔里，但由於南投埔里的聖誕紅溫室有多處，所以不一定是論文中樣本的採集點。對於桃園縣復興、桃園縣觀音、苗栗縣卓蘭、南投縣埔里、宜蘭市和宜蘭三星等 6 個溫室，進行為期 1 年 (2007 年 12 月、2008 年 4 月、2008 年 8 月、2008 年 12 月) 的 4 次採集調查 (表四)。桃園復興 (TTF) 的聖誕紅溫室，在 2007 年 12 月的採集調查尚未發現 Q 型生物小種煙草粉蝨，但是在 2008 年 4 月的採集調查，顯示溫室出現有入侵的 Q 型生物小種，而且採集的 16 隻樣本皆為 Q 型生物小種，在 2008 年 8 月以及 12 月的採集調查，發現 Q 型生物小種對於 B 型生物小種的比例，有逐漸降低的趨勢 (VIII-2008 Q : B = 15 : 6; XII-2008 Q : B = 15 : 65)。宜蘭市 (TYY) 溫室 4 次的採集中，2008 年 8 月的 23 隻樣本中，B 型生物小種佔 7 隻，其餘為 Q 型生物小種，其餘三個時間點所採集的樣本 46 隻個體皆為 Q 型生物小種。苗栗卓蘭 (TMJ) 的溫室在 2008 年 4 月時，有 Q、B、An 和 Na 型生物小種共存的現象，其餘 4 個採集時間點 (包含 IV-2006) 皆為 100% 的 Q 型生物小種。桃園觀音和南投埔里的溫室，多數的採集樣本為 Q 型生物小種，在部分的採集時間出現少數的 B 型生物小種個體，桃園觀音 (TTG) 分別在 2008 年 8 月和 2008 年 12 月的 17 隻和 18 隻樣本中，各發現 1 隻和 3 隻的 B

表四 臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種採集記錄

Table 4. Sample records of *Bemisia tabaci* biotype Q in Taiwan

| Location | Date | Name | Host plant | Numbers of different biotypes | | | | | | |
|-------------------|----------|------|------------------|-------------------------------|---|----|----|----|---|---|
| | | | | Q | B | An | Na | | | |
| Shanhua, Tainan | Feb-2006 | TTSA | Poinsettia | 15 | 1 | | | | | |
| | Jul-2007 | TTSB | Poinsettia | 16 | | | | | | |
| Jhuolan, Miaoli | Apr-2006 | TMJA | Poinsettia | 16 | | | | | | |
| | Dec-2007 | TMJB | Poinsettia | 16 | | | | | | |
| | Apr-2008 | TMJC | Poinsettia | 8 | | | | 3 | 5 | 2 |
| | Aug-2008 | TMJD | Poinsettia | 16 | | | | | | |
| | Dec-2008 | TMJE | Poinsettia | 15 | | | | | | |
| Guanyin, Taoyuan | Dec-2007 | TTGA | Poinsettia | 16 | | | | | | |
| | Aug-2008 | TTGB | Poinsettia | 16 | | | | 1 | | |
| | Dec-2008 | TTGC | Poinsettia | 15 | | | | 3 | | |
| Puli, Nantou | Dec-2007 | TNPA | Poinsettia | 16 | | | | | | |
| | Apr-2008 | TNPB | Poinsettia | 16 | | | | 2 | | |
| | Aug-2008 | TNPC | Poinsettia | 16 | | | | | | |
| | Dec-2008 | TNPD | Poinsettia | 15 | | | | | | |
| Yilan City | Jan-2008 | TYYA | Poinsettia | 16 | | | | | | |
| | Apr-2008 | TYYB | Black nightshade | 15 | | | | | | |
| | Aug-2008 | TYYC | Poinsettia | 16 | | | | 7 | | |
| | Dec-2008 | TYYD | Poinsettia | 15 | | | | | | |
| Fusing, Taoyuan | Apr-2008 | TTFA | Poinsettia | 16 | | | | | | |
| | Aug-2008 | TTFB | Poinsettia | 15 | | | | 6 | | |
| | Dec-2008 | TTFC | Poinsettia | 15 | | | | 65 | | |
| Neihu, Taipei | Oct-2008 | TTN | Poinsettia | 15 | | | | | | |
| Matsu, Lienchiang | Nov-2008 | TLM | Watermelon | 3 | 9 | | | | | |

型生物小種，而南投埔里 (TNP) 在 2008 年 4 月的 18 隻樣本中，發現 2 隻 B 型生物小種個體。宜蘭三星的採集時間有二次，分別為 2007 年 12 月以及 2008 年 4 月，各測試 16 隻的樣本，結果溫室全為 B 型生物小種，無 Q 型生物小種的記錄。野外採集記錄 1 筆，2008 年 9 月連江縣馬祖 (TLM) 西瓜作物上採集到的煙草粉蝨，經專一性引子鑑定，發現 12 隻個體中有 3 隻個體為 Q 型生物小種，其餘為 B 型生物小種。

二、粒線體 (Mitochondrial) COI 基因序列之資料分析

1. 序列之比對與排序

利用 PCR 擴增粒線體 COI 序列約 820bp。臺南善化 (TTS)、桃園觀音 (TTG)、桃園復興 (TTF)、苗栗卓蘭 (TMJ)、南投埔里 (TNP)、宜蘭市 (TYY)、臺北內湖 (TTN) 和連江縣馬祖 (TLM) 的 8 個族群 (由 Q 型生物小種的族群中任意挑選 3 隻樣本) 的 Q 生物小種 COI 序列，經過整理和排序 (Alignment) 後，可以得到 739bp 的序列，分為三個單倍型，之間有 3 個變異的點位 (附錄二)。此外將核苷酸的序列轉譯為胺基酸序列時，顯示三個單倍型轉譯出相同的胺基酸序列。

臺灣地區族群與 GenBank 下載之煙草粉蝨粒線體 COI 序列 (表五)，經過排序和比對後，選取 638bp 的序列，進行分析。臺南善化 (TTS)、桃園觀音 (TTG)、桃園復興 (TTF)、苗栗卓蘭 (TMJ)、南投埔里 (TNP) 和宜蘭市 (TYY) 的樣本為一個單倍型 (H11)，此外宜蘭市的溫室中發現另一個單倍型 (H12)，有 3 個點位的差異，連江縣的馬祖 (TLM) 也自成一個單倍型，與臺灣地區所採集到的 H11 有一個點位的差異，但是與世界各國煙草粉蝨做 COI 序列比對時，只使用 739bp 序列中的 638bp，差異的點位亦被切除，所以 TLM 族群的 COI 序列為 H11 (表五)。國外的 13 個族群，每個族群 3 隻的定序結果，韓國 (FKOA、FKOB 和 FKOC)、日本 (FJPA 和 FJPB)、中國 (FCH) 和西班牙 (FSPA 和 FSPB) 皆為 H11，以

色列 (FIS)、塞浦路斯 (FCP) 為 H44，荷蘭 (FNE) 為 H35，希臘 (FGRM、FGRL) 為 H36，與原先發表在 NCBI 上的 COI 序列皆相同，並沒有發現新的單倍型 (表五)。

2. 親緣關係樹之建立與信賴程度的統計檢驗

臺灣地區族群與 GenBank 下載之煙草粉蝨粒線體 COI 序列，利用紫背草唇粉蝨 (*Lipaleyrodes emiliae*) 為外群，以鄰近法 (neighbor-joining method) 建構親緣關係樹 (圖三)，可區別 Q、Q-related、B 和 Ms 型生物小種。B 型生物小種支系，廣泛分布於世界。Ms 型生物小種支系分布於東非留尼旺島 (Reunion)、馬達加斯加 (Madagascar) 和塞席爾群島 (Seychelles)。Q-related 型生物小種支系分布於中、西非洲地區，包含迦納 (Ghana)、象牙海岸 (Ivory Coast)、喀麥隆 (Cameroon)、辛巴威 (Zimbabwe)、奈及利亞 (Nigeria) 等國家。Q 型生物小種可分為二個單系群，H38~H45 為同系群，分布位置在歐亞交界，包含土耳其 (Turkey)、敘利亞 (Syria)、以色列 (Israel)、塞浦路斯 (Cyprus) 和美國 (USA)，H1~H39 為另一同系群，廣泛分布在地中海地區，以及少數分布在亞洲和美洲地區，其中 H11 (worldwide) 所包含的序列來源，廣泛分布於法國 (France)、西班牙 (Spain)、韓國 (Korea)、日本 (Japan)、中國 (China)、葡萄牙 (Portugal)、希臘 (Greece) 和美國 (USA) 等國家的樣本。宜蘭市聖誕紅溫室所採到的 H12 則獨自成一個單倍型。

3. 親緣地理學 (Phylogeography) 研究

最小跨度網狀圖 (Minimum spanning network) 的分析，顯示 Q 型生物小種的煙草粉蝨的 58 個單倍型，可分成 3 群 (圖四)，比對 NJ tree 發現 Group I 中包含 H46~H58 等 13 個單倍型，是比較早出現的族群，分布的地點在中、西非洲地區，包含辛巴威 (Zimbabwe)、奈及利亞 (Nigeria)、

表五 本研究供試之煙草粉蝨 COI 序列

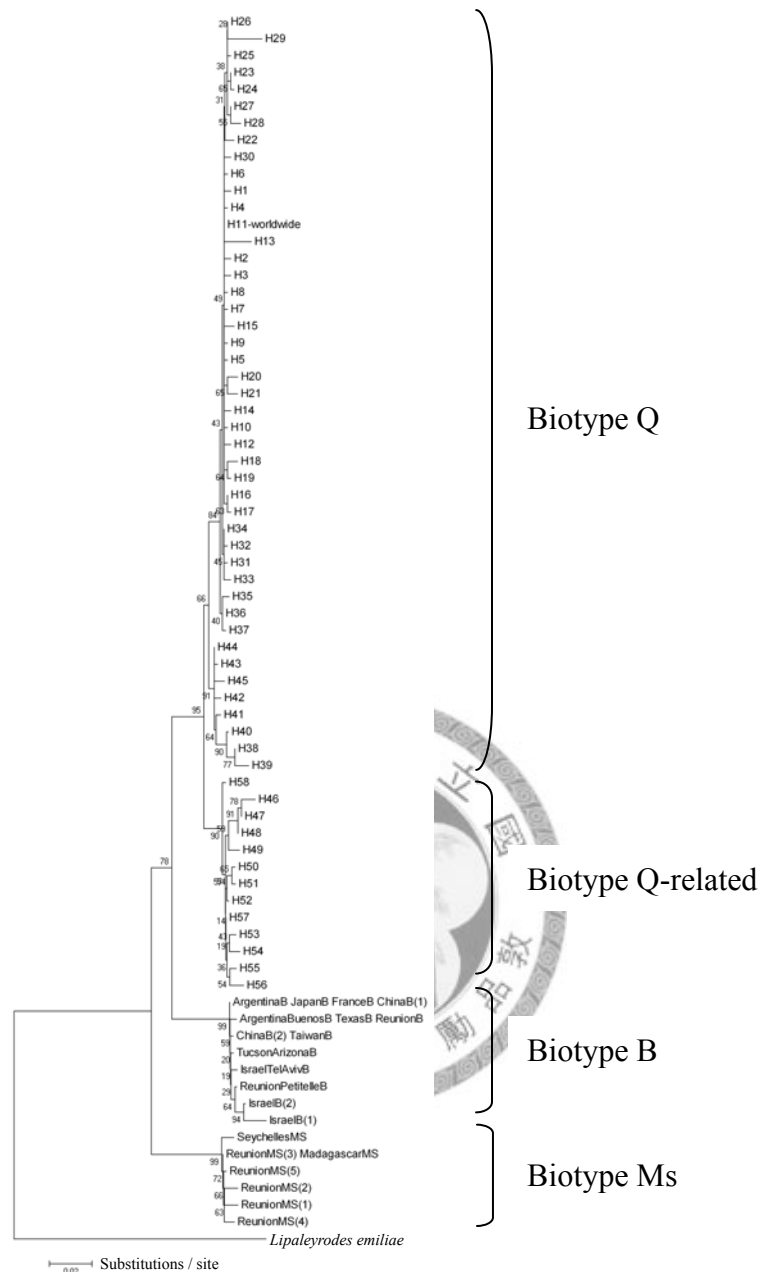
Table 5. List of cytochrome oxidase I (COI) sequences of *Bemisia tabaci* for the phylogenetic analyses

| Group | Abbreviation | Haplo type | Accession no. | Location | Hostplant | Date |
|---------------------------|-------------------|------------|---------------------------|-----------------------------|------------------|------|
| Invasive Q biotype | FranceVar | 1 | AM691063 | Var, France | transvaal daisy | 2003 |
| | Spain(4) | 2 | AF342769 | Spain | cucumber | 1999 |
| | MoroccoMeknes | 3 | AM176572 | Meknes, Morocco | tomato | - |
| | FrancePyrenees(4) | 4 | AM691056 | Pyrenees Orientales, France | tomato | 2003 |
| | JapanKyushu | 4 | DQ989546 | Kyushu, Japan | hot pepper | - |
| | ChinaHubei(2) | 5 | EU000318 | Hubei, China | tomato | 2006 |
| | MoroccoBiougra | 6 | AM176573 | Biougra, Morocco | tomato | - |
| | Spain(2) | 7 | DQ174540 | Spain | - | 2002 |
| | ChinaHubei(5) | 8 | EF667476 | Hubei, China | cowpea | 2006 |
| | SpainAlmeria | 9 | DQ302946 | Almeria, Spain | - | - |
| | ChinaHubei(4) | 10 | EF694111 | Hubei, China | japanese hop | 2006 |
| | China | 11 | DQ473394 | China | cucumber | - |
| | ChinaGuilin | 11 | FJ375349 | Guilin, China | - | - |
| | ChinaGuiyang | 11 | FJ375350 | Guiyang, China | - | - |
| | ChinaHangzhou | 11 | FJ375351 | Hangzhou, China | - | - |
| | ChinaHubei(1) | 11 | EF694104 | Wuhan, Hubei, China | eggplant | 2006 |
| | ChinaJingzhou | 11 | FJ375346 | Jingzhou, China | - | - |
| | ChinaLaiyang | 11 | FJ375347 | Laiyang, China | - | - |
| | ChinaNingbo | 11 | FJ375352 | Ningbo, China | - | - |
| | ChinaSanya | 11 | FJ375348 | Sanya, China | - | - |
| | ChinaTaian | 11 | FJ375353 | Taian, China | - | - |
| | ChinaXiangfan | 11 | FJ375355 | Xiangfan, China | - | - |
| | ChinaXiangtan | 11 | FJ375356 | Xiangtan, China | - | - |
| | ChinaYangzhou | 11 | FJ375357 | Yangzhou, China | - | - |
| | ChinaYueyang | 11 | FJ375358 | Yueyang, China | - | - |
| | China(FCH) | 11 | - | Shandong, China | cotton | 2007 |
| | FranceAlpes | 11 | AM691080 | Alpes Maritimes, France | basil | 2004 |
| | FranceAlpes(1) | 11 | AM691071 | Alpes Maritimes, France | transvaal daisy | 2004 |
| | FranceBouches(2) | 11 | AM691067 | Bouches du Rhone, France | tomato | 2005 |
| | FranceGironde | 11 | AM691051 | Gironde, France | hibiscus | 2003 |
| | FranceLandes | 11 | AM691053 | Landes, France | Begonia | 2003 |
| | FranceLandes(1) | 11 | AM691052 | Landes, France | hibiscus | 2003 |
| | FrancePyrenees(1) | 11 | AM691084 | Pyrenees Orientales, France | cucumber | 2003 |
| | GreeceCrete(5) | 11 | DQ365859 | Malades, Crete, Greece | trail lantana | 2002 |
| | JapanHiroshima | 11 | AB204588 | Mihara, Hiroshima, Japan | tomato | 2004 |
| | JapanKagoshima(1) | 11 | AB204587 | Okuchi, Kagoshima, Japan | tomato | 2004 |
| | JapanKagoshima(2) | 11 | AB204586 | Miyanojo, Kagoshima, Japan | melon | 2004 |
| | JapanKumamoto | 11 | AB204579 | Nishigoshi, Kumamoto, Japan | pumpkin | 2004 |
| | Japan(FJPB) | 11 | - | Kumamoto, Japan | Big bidens | 2008 |
| | KoreaBuyeo | 11 | DQ462583 | Buyeo, Korea | - | - |
| | KoreaGeoje | 11 | DQ462585 | Geoje, Korea | - | - |
| | KoreaJinju | 11 | DQ462584 | Jinju, Korea | - | - |
| | KoreaWhaseong | 11 | DQ462586 | Whaseong, Korea | - | - |
| | Korea(FKOA) | 11 | - | Kyeonggi-do, Korea | poinsettia | 2008 |
| | Korea(FKOB) | 11 | - | Kyeonggi-do, Korea | poinsettia | 2008 |
| | Korea(FKOC) | 11 | - | Yuseong, Daejeon, Korea | black nightshade | 2008 |
| | Portugal | 11 | DQ365876 | Portugal | tomato | 1997 |
| Spain(1) | 11 | DQ365875 | Spain | tomato | 2000 | |
| Spain(7) | 11 | EU427719 | Spain | - | 2001 | |
| Spain(8) | 11 | DQ365874 | Spain | tomato | 1998 | |
| Spain(FSPA) | 11 | - | Spain | cucumber | 2003 | |
| Spain(FSPB) | 11 | - | Spain | tomato | 2003 | |
| TTG4173 | 11 | - | Guanyin, Taoyuan, Taiwan | poinsettia | 2007 | |
| TTF4330-4 | 11 | - | Fusing, Taoyuan, Taiwan | poinsettia | 2008 | |
| TLM4445-1 | 11 | - | Matsu, Lienchiang, Taiwan | watermelon | 2008 | |
| TTN4450-4 | 11 | - | Neihu, Taipei, Taiwan | poinsettia | 2007 | |
| TYT4201-2 | 11 | - | Yilan, Taiwan | poinsettia | 2007 | |
| TMJ4175 | 11 | - | Jhuolan, Miaoli, Taiwan | poinsettia | 2007 | |
| TTS2028-2 | 11 | - | Shanhua, Tainan, Taiwan | poinsettia | 2006 | |
| USACalifornia(1) | 11 | EU427722 | California, USA | transvaal daisy | - | |
| USAGeorgia | 11 | EF080823 | Georgia, USA | ornamentals | 2005 | |
| USAOregon | 11 | EU427725 | Oregon, USA | begonia | - | |

| | | | | | | |
|--------------------------|--------------------|----|----------|---------------------------------|------------------|------|
| | TTY4190-1 | 12 | - | Yilan, Taiwan | poinsettia | 2007 |
| | Spain(6) | 13 | DQ174539 | Spain | - | 2002 |
| | MoroccoNador | 14 | AJ517769 | Nador, Morocco | - | - |
| | Spain(3) | 15 | AY057139 | Spain | tomato | 1995 |
| | Spain(5) | 15 | AF342775 | Spain | - | 1992 |
| | ChinaHubei(6) | 16 | EF694112 | Hubei, China | cucumber | 2006 |
| | ChinaHubei(3) | 17 | EF694108 | Hubei, China | cabbage | 2006 |
| | AlgeriaAlger | 18 | AM176574 | Alger Algeria | - | - |
| | AlgeriaBiskra | 19 | AM176575 | Biskra Algeria | pumpkin | - |
| | Sudan(2) | 20 | AY827613 | Sudan | cotton | - |
| | Sudan(3) | 21 | AY827614 | Sudan | cotton | - |
| | FrancePyrenees(2) | 22 | AM691055 | Pyrenees Orientales, France | tomato | 2003 |
| | GhanaTamale(2) | 23 | AM040608 | Tamale, Ghana | cassava | - |
| | GhanaTamale(1) | 24 | AM040609 | Tamale, Ghana | cassava | - |
| | Masindi | 25 | AY903578 | Masindi | tobacco | 2003 |
| | Sudan(1) | 26 | DQ133380 | Sudan | tomato | - |
| | GreeceAgrinio(1) | 27 | DQ365864 | Agrinio, Greece | tobacco | 2004 |
| | GreeceCrete(4) | 27 | DQ365856 | Arvi, Crete, Greece | black nightshade | 2002 |
| | GreeceSantorini | 27 | DQ365861 | Santorini, Greece | melon | 2004 |
| | Sudan(4) | 28 | AY827612 | Sudan | cotton | - |
| | Sudan(5) | 29 | AY827615 | Sudan | cotton | - |
| | MoroccoFes | 30 | AM176571 | Fes, Morocco | eggplant | - |
| | Morocco(1) | 31 | AY057138 | Morocco | tomato | 1999 |
| | FranceBouches | 32 | AM691068 | Bouches du Rhone, France | tomato | 2005 |
| | FranceRoussillon | 33 | AM180063 | Roussillon, France | - | - |
| | FrancePyrenees(3) | 34 | AM691059 | Pyrenees Orientales, France | cucumber | 2005 |
| | FranceAlpes(2) | 35 | AM691083 | Alpes Maritimes, France | basil | 2004 |
| | MoroccoSouss | 35 | EF080822 | Souss Valley, Morocco | - | 2005 |
| | Netherlands | 35 | DQ174541 | Netherlands | hibiscus | - |
| | Netherlands(FNE) | 35 | - | Netherlands | hibiscus | 2002 |
| | GreeceAgrinio | 36 | DQ365865 | Agrinio, Greece | cucumber | 2004 |
| | Greece(FGRM) | 36 | - | Agrinio, Greece | cucumber | 2004 |
| | GreeceAitoliko | 36 | DQ365866 | Aitoliko, Greece | cotton | 2004 |
| | GreeceCrete(1) | 36 | DQ365860 | Livanaki, Crete, Greece | lemon balm | 2002 |
| | GreeceCrete(2) | 36 | DQ365858 | Chorafakia Crete, Crete, Greece | melon | 2003 |
| | GreeceCrete(3) | 36 | DQ365857 | Heraklion | sweet potato | 2002 |
| | GreeceCrete(FGRL) | 36 | - | Arvi, Crete, Greece | black nightshade | 2006 |
| | GreeceKarditsa | 36 | DQ365863 | Karditsa, Greece | cotton | 2004 |
| | GreecePelopon(1) | 36 | DQ365870 | Sterna, Peloponnesus, Greece | tobacco | 2004 |
| | GreecePelopon(2) | 36 | DQ365869 | Mykines, Peloponnesus, Greece | zucchini | 2004 |
| | GreecePelopon(3) | 36 | DQ365868 | Gythion, Peloponnesus, Greece | cucumber | 2004 |
| | GreecePelopon(4) | 36 | DQ365867 | Assopos, Peloponnesus, Greece | eggplant | 2004 |
| | GreeceThessaloniki | 36 | DQ365862 | Thessaloniki, Greece | cotton | 2002 |
| | FranceBouches(3) | 37 | AM691062 | Bouches du Rhone, France | tomato | 2003 |
| Q biotype origin | Mid-Eastern(1) | 38 | AY766371 | Mid-Eastern | - | - |
| | Mid-Eastern(2) | 39 | AY766370 | Mid-Eastern | - | - |
| | Mid-Eastern(3) | 40 | AY766372 | Mid-Eastern | - | - |
| | Turkey(2) | 41 | AF342776 | Turkey | cotton | - |
| | SyriaHama(1) | 42 | AB297897 | Hama, Syria | potato | 2006 |
| | SyriaHama(2) | 43 | AB297898 | Hama, Syria | potato | 2006 |
| | CyprusChloraka | 44 | DQ365877 | Chloraka, Cyprus | cucumber | 2003 |
| | Cyprus(FCP) | 44 | - | Cyprus | - | 2004 |
| | Israel | 44 | DQ989554 | Israel | - | - |
| | Israel(FIS) | 44 | - | Israel | - | - |
| | SyriaAleppo | 44 | AB297895 | Aleppo, Syria | potato | 2006 |
| | Turkey(1) | 44 | AY827617 | Turkey | tomato | - |
| | USACalifornia(2) | 44 | EU427721 | California, USA | transvaal daisy | - |
| | USAFlorida | 44 | FJ188480 | Lee County, Florida, USA | hibiscus | - |
| | USASanDiego | 44 | EF080821 | CA, San Diego, USA | - | 2005 |
| | Turkey(3) | 45 | AY827619 | Turkey | tomato | - |
| Q-related biotype | Zimbabwe(2) | 46 | AF344286 | Zimbabwe | - | - |
| | Zimbabwe(1) | 47 | AF344285 | Zimbabwe | - | - |
| | Nigeria | 48 | AY827606 | Nigeria | cowpea | - |
| | Cameroon | 49 | AF344258 | Cameroon | okra | - |
| | Ghana(8) | 50 | AY827588 | Ghana | okra | - |
| | Ghana(1) | 51 | AY827590 | Ghana | okra | - |
| | IvoryCoast | 52 | AY057136 | Ivory Coast | okra | 2000 |
| | Ghana(3) | 53 | AY827579 | Ghana | sweet potato | - |
| | Ghana(2) | 54 | AY827580 | Ghana | sweet potato | - |
| | Ghana(5) | 55 | AY827581 | Ghana | sweet potato | - |
| | Ghana(4) | 56 | AY827582 | Ghana | sweet potato | - |
| | Ghana(6) | 57 | AY827587 | Ghana | okra | - |
| | Ghana(7) | 58 | AY827589 | Ghana | okra | - |

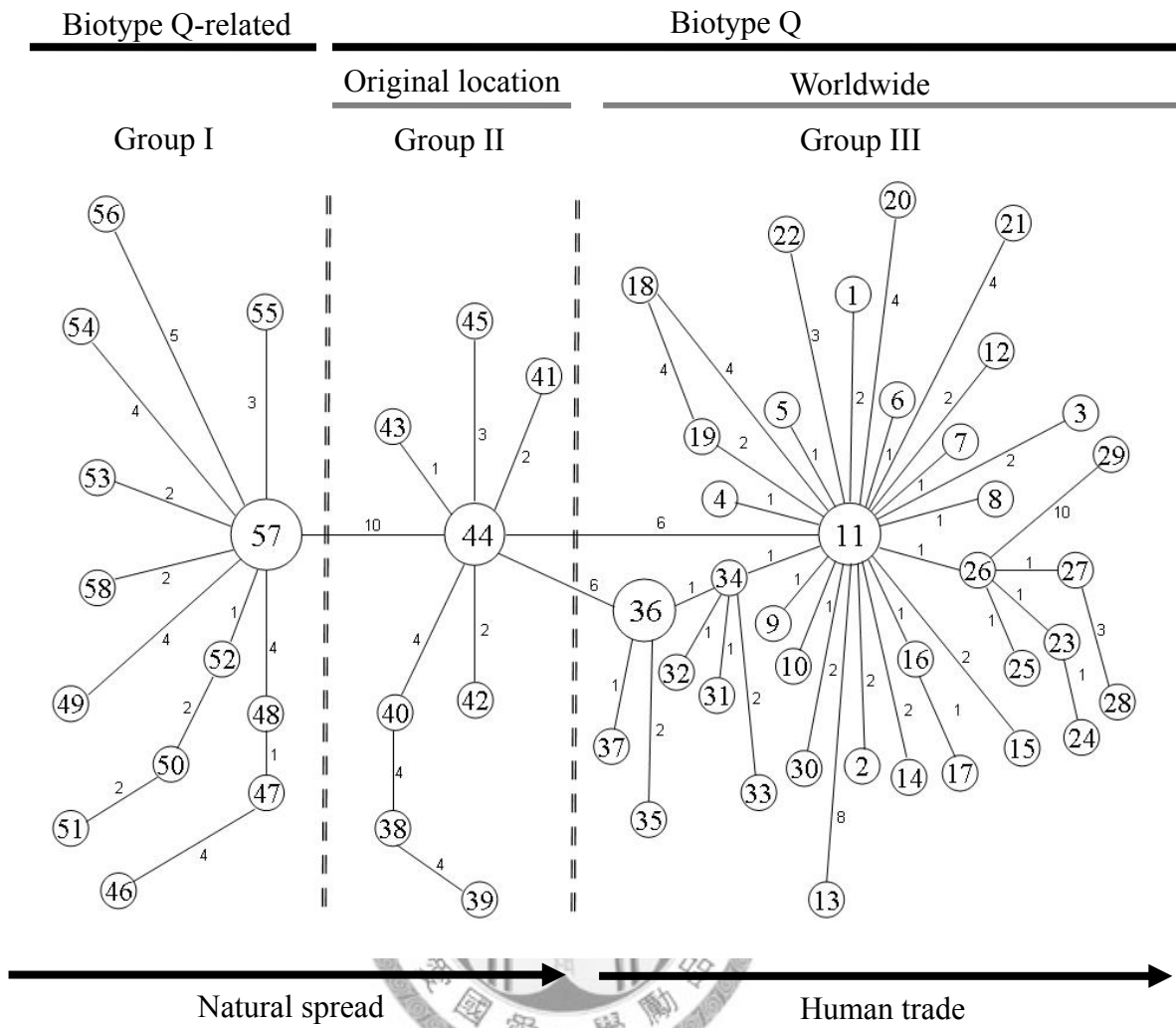
| | | | | | | |
|-------------------|-----------------------------|---|----------|-------------------------|-------------------------|------|
| Ms biotype | MadagascarMS | - | AJ550171 | Tulear, Madagascar | tomato | - |
| | ReunionMS(1) | - | AJ550179 | Reunion | poinsettia | - |
| | ReunionMS(2) | - | AJ550180 | Reunion | sweet potato | - |
| | ReunionMS(3) | - | AJ877264 | Cambuston, Reunion | - | - |
| | ReunionMS(4) | - | AJ877263 | Saint Paul, Reunion | - | - |
| | ReunionMS(5) | - | AJ550178 | Reunion | poinsettia | - |
| | SeychellesMS | - | AJ550182 | Mahe, Seychelles | barbadosnut | - |
| B biotype | ArgentinaB | - | AF340216 | Chaco, Argentina | - | - |
| | ArgentinaBuenosB | - | AF340215 | Buenos Aires, Argentina | - | - |
| | ChinaB(1) | - | AJ867555 | Zhejiang, China | - | - |
| | ChinaB(2) | - | AY686081 | Shanxi, China | eggplant | - |
| | FranceB | - | AJ550169 | Antibes, France | eggplant | - |
| | IsraelB(1) | - | AY766369 | Israel | - | - |
| | IsraelB(2) | - | AY747688 | Israel | cotton | 1987 |
| | IsraelTelAvivB | - | AF418671 | Tel Aviv, Israel | cabbage | - |
| | JapanB | - | AB204582 | Matsudo, Chiba, Japan | green pepper | 2004 |
| | ReunionB | - | AJ550177 | Reunion | eggplant | - |
| | ReunionPetitelleB | - | AJ877260 | Petite Ile, Reunion | - | 2001 |
| | TaiwanB | - | AY686080 | Tainan, Taiwan | tomato | - |
| | TexasB | - | AF164675 | Texas | - | - |
| | TucsonArizonaB | - | AY057123 | Tucson, Arizona, USA | poinsettia | 1988 |
| Outgroup | <i>Lipaleyrodes emiliae</i> | - | DQ989555 | Taiwan | sowthistle tasselflower | - |





圖三 煙草粉蝨粒線體 COI 序列，以鄰近法所建構之親緣關係樹，並進行 1000 次 bootstrap 檢測，以紫背草唇粉蝨 (*Lipaleyrodes emiliae*) 為外群。

Fig 3. Phylogenetic tree of cytochrome oxidase I (COI) sequences for *Bemisia tabaci*. A Neighbor-joining tree was constructed with 1000 bootstrap resampling replications. Numbers at the nodes are the bootstrap support values. The outgroup was *Lipaleyrodes emiliae*.



圖四 煙草粉蝨 Q 型生物小種之最小跨度網狀圖，數字代表單倍型之間核苷酸突變數。

Fig 4. Minimum spanning network showing relationships of *Bemisia tabaci* biotype Q based on mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) sequences. Numbers at the branches are the number of nucleotide mutations between haplotypes.

喀麥隆 (Cameroon)、迦納 (Ghana)、象牙海岸 (Ivory Coast) 等國家，單倍型之間有較大的核苷酸差異，在 638bp 的 COI 序列長度中約有 2~5bp 的遺傳變異。Group II 是 H38~H45 等 8 個單倍型，分布於歐亞交界處，包含敘利亞 (Syria)、土耳其 (Turkey)、以色列 (Israel)、塞浦路斯 (Cyprus) 等國家，在核苷酸的差異約有 2~4bp 的遺傳變異。Group III 是 H1~H37 共 37 個單倍型，廣泛分布於世界各地，除包含歐洲地區希臘 (Greece)、法國 (France)、西班牙 (Spain)、葡萄牙 (Portugal)、阿爾及利亞 (Algeria)、荷蘭 (Netherlands) 等國家，亞洲地區中國 (China)、韓國 (Korea)、日本 (Japan) 和臺灣 (Taiwan)，非洲地區的摩洛哥 (Morocco)、蘇丹 (Sudan) 和迦納 (Ghana)，美洲地區的美國 (U.S.A.)，而且這一群的核苷酸差異，約只有 1~2 bp 的遺傳變異。

三、微衛星基因座的增幅與資料分析

1. 遺傳變異 (Genetic variation) 分析

連江縣馬祖 (TLM) 族群，僅有 3 隻個體，所以不做微衛星 DNA 分析，其餘收集自國外以及臺灣地區聖誕紅溫室的 Q 型生物小種，共 20 個族群的 35 筆資料，共 492 隻雌性個體，其中臺南善化 (TTS) 族群有 2 筆不同時間採集記錄，桃園復興 (TTF) 和桃園觀音 (TTG) 族群有 3 筆不同時間採集記錄，宜蘭市 (TYY) 和南投埔里 (TNP) 族群有 4 筆不同採集時間，苗栗卓蘭 (TMJ) 族群有 5 筆不同時間採集記錄。利用 12 個微衛星基因座進行族群遺傳的分析，結果發現有 35 筆中有 28 筆偏離哈溫平衡的預期。利用 GENEPOP 軟體，對 12 個基因座間連鎖不平衡的檢測，顯示各基因座之間獨立沒有連鎖不平衡的情況。再利用 micro-checker 檢測 12 個基因座中，是否有無效對偶基因 (null allele)，結果亦顯示 12 個基因座中沒有無效對偶基因。因此，刪除 3 個顯著偏離哈溫平衡預期的基因座 (Del-53、Bem6 和 Bem23)，再進行以下遺傳結構分析 (表六)。

利用 Fisher's exact test 進行哈溫平衡檢測，國外及臺灣地區 20 個族群的 35 筆記錄。國外的樣本顯示，顯著偏離哈溫平衡預期的僅有希臘 (FGRL) 族群 ($P < 0.05$)，其餘族群皆符合哈溫平衡的預期。臺灣地區的族群，僅有苗栗卓蘭的族群，在 2008 年 8 月與 2008 年 12 月所採的 2 筆記錄，有偏離哈溫平衡的預測 ($P < 0.05$)，其餘族群皆符合哈溫平衡的預期。

近親交配指數 (F_{IS})，國外的樣本結果顯示僅有希臘 (FGRL) 族群，達顯著差異 ($P < 0.05$)， F_{IS} 值為 0.187。臺灣地區溫室裡的 22 筆記錄，結果僅有苗栗卓蘭族群，在 2008 年 8 月 (TMJD) 和 2008 年 12 月 (TMJE) 筆記錄，有顯著近親交配的情況 ($P < 0.05$)， F_{IS} 值介於 0.152 ~ 0.168。

2. 族群分化指數 (F_{ST})

族群分化指數 (F_{ST}) 結果 (表七)，顯示以色列 (FIS)、西班牙的兩個族群 (FSPA、FSPB) 和希臘的兩個族群 (FGRM、FGRL)，和各國之間有較大的遺傳分化 (F_{ST} value > 0.25)，亞洲地區各國家之間的族群，遺傳差異較小 (F_{ST} value < 0.2)。臺灣地區除了桃園復興 (TTFA 和 TTFB) 和各個族群有比較大的遺傳差異 (0.2009~0.0725)，其餘各族群間分化指數小 (0.0925~-0.0183)，甚至出現負值的情況，顯示族群之間並沒有明顯分化的現象。另外，臺灣地區溫室內的族群，和西班牙 (FSPA、FSPB)、以色列 (FIS)、日本 (FJPA) 和希臘 (FGRM、FGRL) 遺傳差異較大，然而與韓國大田市野外的族群 (FKOC) 及日本野外族群 (FJPB) 遺傳差異較小。

表六 族群遺傳結構分析

Table 6. Genetic characteristics of populations

| Population | Date | N | N_A | F_{IS} | $P(F_{IS})$ | H_E | H_O | H-W test |
|------------|----------|-----|-------|----------|-------------|--------|--------|----------|
| FNE | 2002 | 12 | 4.33 | -0.041 | 0.7730 | 0.5616 | 0.5833 | 0.2408 |
| FSPA | 2003 | 16 | 2.56 | -0.071 | 0.8363 | 0.2796 | 0.2986 | 0.9930 |
| FSPB | 2003 | 12 | 2.33 | -0.002 | 0.5692 | 0.2774 | 0.2778 | 0.1276 |
| FCP | 2004 | 12 | 4.11 | 0.025 | 0.4012 | 0.5121 | 0.5000 | 0.9269 |
| FJPA | 2005 | 12 | 2.56 | -0.038 | 0.7201 | 0.4110 | 0.4259 | 0.8153 |
| FJPB | 2008 | 6 | 3.89 | 0.169 | 0.0484 | 0.5488 | 0.4630 | 0.2357 |
| FIS | 2006 | 8 | 2.00 | -0.064 | 0.7528 | 0.2491 | 0.2639 | 0.8603 |
| FCH | 2007 | 12 | 4.11 | 0.063 | 0.2087 | 0.4730 | 0.4444 | 0.7278 |
| FGRM | 2004 | 8 | 4.44 | 0.061 | 0.2310 | 0.4713 | 0.4444 | 0.7121 |
| FGRL | 2006 | 12 | 5.44 | 0.187 | 0.0018** | 0.5197 | 0.4259 | 0.0197* |
| FKOA | 2008 | 16 | 4.00 | 0.048 | 0.2397 | 0.5392 | 0.5139 | 0.6550 |
| FKOB | 2008 | 16 | 4.22 | 0.026 | 0.3633 | 0.5414 | 0.5278 | 0.9818 |
| FKOC | 2008 | 15 | 5.44 | -0.101 | 0.9850 | 0.5604 | 0.6148 | 0.9750 |
| TTSA | Feb-2006 | 15 | 4.00 | 0.110 | 0.0509 | 0.5142 | 0.4593 | 0.2500 |
| TTSB | Jul-2007 | 16 | 4.22 | 0.024 | 0.3791 | 0.5119 | 0.5000 | 0.8389 |
| TMJA | Apr-2006 | 16 | 5.00 | 0.063 | 0.1581 | 0.5323 | 0.5222 | 0.3124 |
| TMJB | Dec-2007 | 16 | 4.56 | -0.024 | 0.7008 | 0.5090 | 0.5208 | 0.7402 |
| TMJC | Apr-2008 | 8 | 4.00 | 0.201 | 0.0094 | 0.5833 | 0.4722 | 0.3914 |
| TMJD | Aug-2008 | 16 | 4.33 | 0.152 | 0.0077** | 0.5213 | 0.4444 | 0.0045** |
| TMJE | Dec-2008 | 15 | 4.78 | 0.168 | 0.0030** | 0.5487 | 0.4593 | 0.0162* |
| TTGA | Dec-2007 | 16 | 4.78 | -0.080 | 0.0883 | 0.5119 | 0.4722 | 0.1576 |
| TTGB | Aug-2008 | 16 | 4.78 | 0.066 | 0.1486 | 0.5341 | 0.5000 | 0.3049 |
| TTGC | Dec-2008 | 15 | 4.56 | 0.174 | 0.0031 | 0.5167 | 0.4296 | 0.4505 |
| TNPA | Dec-2007 | 16 | 4.44 | 0.101 | 0.0610 | 0.4774 | 0.4306 | 0.8101 |
| TNPB | Apr-2008 | 16 | 4.56 | 0.124 | 0.0248 | 0.5221 | 0.4593 | 0.5616 |
| TNPC | Aug-2008 | 16 | 4.56 | -0.013 | 0.6297 | 0.5076 | 0.5139 | 0.9992 |
| TNPD | Dec-2008 | 15 | 4.00 | -0.052 | 0.8271 | 0.4656 | 0.4889 | 0.8971 |
| TYYA | Jan-2008 | 16 | 4.44 | -0.012 | 0.6253 | 0.5013 | 0.5069 | 0.8315 |
| TYYB | Apr-2008 | 15 | 4.44 | -0.037 | 0.7712 | 0.5029 | 0.5208 | 0.9293 |
| TYYC | Aug-2008 | 16 | 4.33 | 0.037 | 0.2980 | 0.5184 | 0.5000 | 0.8783 |
| TYYD | Dec-2008 | 15 | 4.22 | 0.039 | 0.3018 | 0.5157 | 0.4963 | 0.3056 |
| TTFA | Arp-2008 | 16 | 3.00 | -0.030 | 0.7083 | 0.5128 | 0.5278 | 0.6918 |
| TTFB | Aug-2008 | 15 | 2.67 | -0.062 | 0.8278 | 0.4544 | 0.4815 | 0.1920 |
| TTFC | Dec-2008 | 15 | 4.22 | 0.027 | 0.3623 | 0.5022 | 0.4889 | 0.5516 |
| TTN | Oct-2008 | 15 | 4.67 | 0.157 | 0.0073 | 0.4981 | 0.4222 | 0.6870 |

N : sample size ; N_A : mean average number of allele ; F_{IS} : inbreeding coefficient values ; H_E : expect heterozygosity ; H_O : observed heterozygosity (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$)

3. 近期瓶頸效應檢測 (bottleneck test)

瓶頸效應檢測 (bottleneck test) (表八)，臺灣地區所採集的族群，異型合子比例 (H_0) 是否超過具有相同對偶基因數目的穩定族群所應具有的異型合子比例 (H_E) 檢測，以 step-wise mutation model (SMM) 模式，臺灣地區苗栗卓蘭 (TMJA)、桃園復興 (TTFA) 和韓國大田 (FKOC) 的族群有顯著經歷瓶頸效應的作用。若以 two phased model (TPM) 模式，則僅有苗栗卓蘭 (TMJA) 和桃園復興 (TTFA) 兩個族群有顯著經歷瓶頸的作用。各基因座對偶基因的頻度分布檢測方面，日本 (FJPA)、以色列 (FIS) 以及在在苗栗卓蘭 (TMJC) 和桃園復興 (TTFA 和 TTFB) 共 5 個族群顯著的偏離 L 型分布，而其餘的族群，並無顯著偏離 L 型分布，偏離 L 型分布的族群中，以色列 (FIS) 和苗栗卓蘭 (TMJC) 進行瓶頸效應檢測的樣本，僅有 8 隻個體。

4. 親緣關係樹 (Phylogenetic tree) 之建構

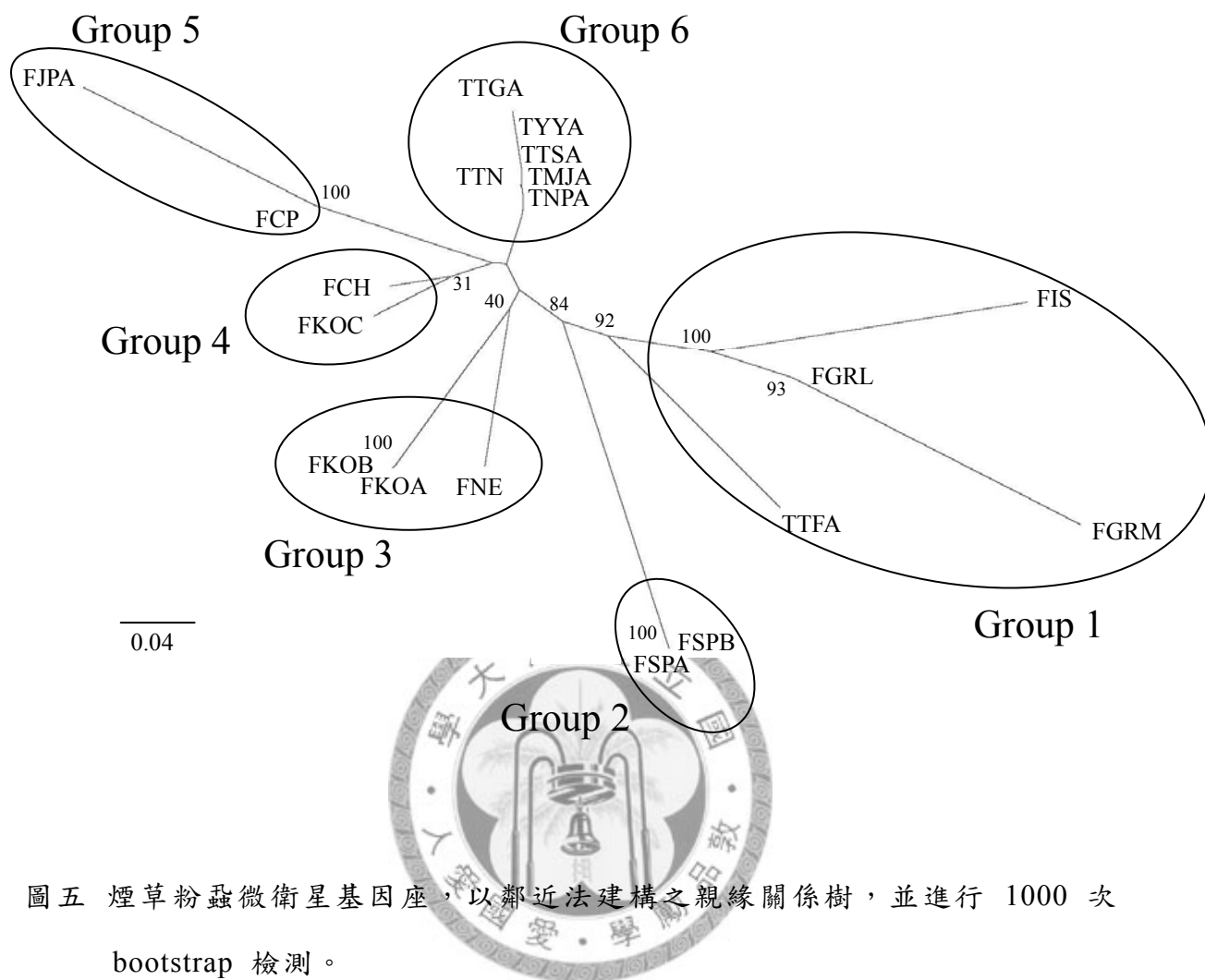
臺灣地區溫室裡的樣本，以及國外收集來的 Q 型生物小種族群，利用微衛星基因座的資訊，以鄰接法建構親緣關係樹，並進行 1000 bootstrap 檢測 (圖五)，可分成 6 個 group，Group 1 的支系裡包含希臘 (FGRM、FGRL)、以色列 (FIS) 和桃園復興 (TTFA) 的族群，顯示有較相近的親緣關係。Group 2 的支系裡，包含西班牙 (FSPA 和 FSPB) 兩個族群。Group 3 的支系裡，包含韓國首爾的兩處聖誕紅溫室 (FKOA、FKOB) 以及荷蘭 (FNE) 族群。Group 4 的支系裡，包含中國 (FCH) 和韓國野外族群 (FKOC)。Group 5 的支系裡，包含日本 (FJPA) 和塞普路斯 (FCP) 的族群。Group 6 的支系裡主要是臺灣地區溫室裡的族群，臺南縣善化 (TTSA)、苗栗縣卓蘭 (TMJA)、桃園縣觀音 (TTGA)、南投縣埔里 (TNPA)、宜蘭市 (TYYA) 和臺北內湖花市 (TTN)，6 個族群之間親緣關係較為接近。

表八 瓶頸效應檢測

Table 8. Results of the bottleneck effect test

| Population | Date | Size | Loci with H excess | | P-value (Wilcoxon test) | | L-shaped distribution |
|------------|----------|------|--------------------|---------|-------------------------|-----------|-----------------------|
| | | | TPM | SMM | TPM | SMM | |
| FNE | 2002 | 12 | 5(4.41) | 5(4.35) | 0.38281 | 0.54688 | normal |
| FSPA | 2003 | 16 | 2(3.32) | 2(3.38) | 0.56250 | 0.43750 | normal |
| FSPB | 2003 | 12 | 3(3.22) | 2(3.24) | 0.68750 | 0.43750 | normal |
| FCP | 2004 | 12 | 5(4.97) | 5(4.98) | 0.91016 | 0.73438 | normal |
| FJPA | 2005 | 12 | 5(4.33) | 4(4.20) | 0.38281 | 0.46094 | shifted mode |
| FJPB | 2008 | 6 | 4(4.61) | 4(4.13) | 0.93750 | 0.68750 | normal |
| FIS | 2006 | 8 | 2(2.58) | 2(2.85) | 0.81250 | 0.81250 | shifted mode |
| FCH | 2007 | 12 | 4(4.82) | 4(4.84) | 0.30078 | 0.16406 | normal |
| FGRM | 2004 | 8 | 3(4.61) | 3(4.36) | 0.31250 | 0.31250 | normal |
| FGRL | 2006 | 12 | 2(4.46) | 2(4.40) | 0.31250 | 0.19531 | normal |
| FKOA | 2008 | 16 | 5(5.09) | 5(5.19) | 0.65231 | 0.57031 | normal |
| FKOB | 2008 | 16 | 4(5.12) | 3(5.14) | 0.57031 | 0.30078 | normal |
| FKOC | 2008 | 15 | 2(5.20) | 2(5.29) | 0.04883* | 0.00977** | normal |
| TTSA | Feb-2006 | 15 | 6(4.58) | 4(5.58) | 0.46094 | 0.94531 | normal |
| TTSB | Jul-2007 | 16 | 6(4.68) | 6(4.77) | 0.35938 | 0.49609 | normal |
| TMJA | Apr-2006 | 16 | 2(5.01) | 1(5.00) | 0.20313 | 0.03711* | normal |
| TMJB | Dec-2007 | 16 | 4(4.82) | 4(4.91) | 1.00000 | 0.82031 | normal |
| TMJC | Apr-2008 | 8 | 6(4.54) | 6(4.50) | 0.25000 | 0.38281 | shifted mode |
| TMJD | Aug-2008 | 16 | 3(5.10) | 3(5.16) | 0.30078 | 0.16406 | normal |
| TMJE | Dec-2008 | 15 | 6(5.04) | 4(5.01) | 0.91016 | 0.82031 | normal |
| TTGA | Dec-2007 | 16 | 4(4.54) | 3(4.48) | 0.64063 | 0.54688 | normal |
| TTGB | Aug-2008 | 16 | 3(4.55) | 3(4.53) | 1.00000 | 0.64063 | normal |
| TTGC | Dec-2008 | 15 | 3(4.63) | 3(4.49) | 0.84375 | 0.46094 | normal |
| TNPA | Dec-2007 | 16 | 4(4.84) | 3(4.88) | 0.42578 | 0.30078 | normal |
| TNPB | Apr-2008 | 16 | 4(5.05) | 3(5.12) | 0.65234 | 0.42578 | normal |
| TNPC | Aug-2008 | 16 | 4(5.02) | 4(5.02) | 0.65234 | 0.49609 | normal |
| TNPD | Dec-2008 | 15 | 3(4.99) | 3(5.01) | 0.57031 | 0.49609 | normal |
| TYYA | Jan-2008 | 16 | 5(4.36) | 4(4.42) | 0.64063 | 1.00000 | normal |
| TYYB | Apr-2008 | 15 | 4(4.46) | 4(4.44) | 1.00000 | 0.84375 | normal |
| TYYC | Aug-2008 | 16 | 6(4.46) | 5(4.49) | 0.46094 | 0.64063 | normal |
| TYYD | Dec-2008 | 15 | 4(4.60) | 4(4.52) | 0.74219 | 0.94531 | normal |
| TTFA | Arp-2008 | 16 | 7(4.94) | 7(4.90) | 0.01367* | 0.01953* | shifted mode |
| TTFB | Aug-2008 | 15 | 6(4.58) | 6(4.65) | 0.54688 | 0.64063 | shifted mode |
| TTFC | Dec-2008 | 15 | 3(5.18) | 3(5.25) | 0.30078 | 0.16406 | normal |
| TTN | Oct-2008 | 15 | 3(4.53) | 3(4.44) | 0.74219 | 0.38281 | normal |

TPM: two phased model; SMM: step-wise mutation model (*p < 0.05; **p < 0.01)



圖五 煙草粉蝨微衛星基因座，以鄰近法建構之親緣關係樹，並進行 1000 次 bootstrap 檢測。

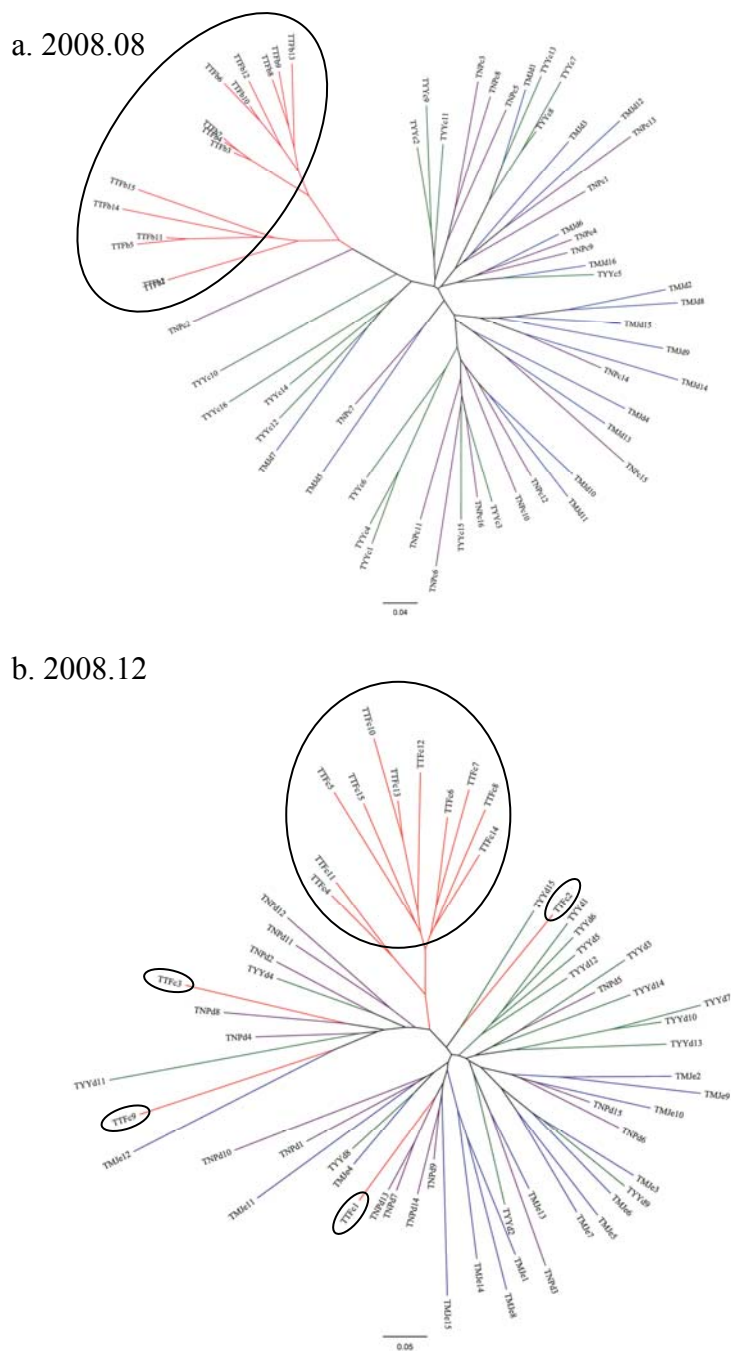
Fig 5. Unrooted Neighbor-joining tree estimated from *Bemisia tabaci* based on microsatellite loci. Bootstrap values obtained with 1000 resamplings are shown at the nodes.

臺灣地區桃園復興 (TTF)、苗栗卓蘭 (TMJ)、南投埔里 (TNP) 和宜蘭市 (TYY) 的 4 個聖誕紅溫室中的樣本，分別建構 2008 年 8 月和 2008 年 12 月個體之親緣關係樹。在 2008 年 8 月的親緣關係樹 (圖六 a)，桃園復興 (TTFB) 樣本的 15 隻個體，獨自成一個單系群，2008 年 12 月的採集樣本親緣關係樹 (圖六 b)，顯示桃園復興 (TTFC) 的樣本，11 隻個體成一個單系群，但是有 4 隻個體 (TTFC1、TTFC2、TTFC3、TTFC9) 與其餘樣本有相近的親緣關係。

5. 族群結構

以 Structure 2.1 程式演算結果顯示，在重覆次數為 4 次的演算下，計算 $K=3\sim 15$ 時的 log-likelihood 值，並檢視 4 次重覆中 log-likelihood 值最高的分群方式，顯示 $K=3\sim 10$ 的分群分析 (圖七)，計算 $K=1\sim 15$ 的 ΔK ，以 $K=8$ 時的 ΔK 值最大為 53.567 (附錄三)，顯示所有族群可分成 8 個原始分群 (cluster)，其中以 run 3 的 $\ln(P)$ 值最大且 $\alpha_1 < 1$ 。檢視該次運算所得個體分布到 8 個分群的機率分布 (圖七 f)。

分群的方式，Cluster 1、Cluster 2 和 Cluster 5 分布在臺灣地區臺南縣善化 (TTS)、苗栗縣卓蘭 (TMJ)、桃園縣觀音 (TTG)、南投縣埔里 (TNP) 和宜蘭市 (TYY) 的族群中。Cluster 3 分布在以色列 (FIS) 和希臘 (FGRM、FGRL) 的族群。Cluster 4 分布於韓國首爾的兩處聖誕紅溫室 (FKOA 和 FKOB)，以及荷蘭 (FNE) 少數個體。Cluster 6 包含西班牙的兩個族群 (FSPA、FSPB)。Cluster 7 分布於日本 (FJPA 和 FJPB)、塞普路斯 (FCP) 的樣本，以及荷蘭 (FNE)、中國 (FCH) 和韓國 (FKOC) 野外樣本的少數個體。Cluster 8 的分群分布於桃園復興族群的三筆採集樣本 (TTFA、TTFB 和 TTFC)。由分群分析圖來看，外國的族群，大部分屬於單一來源，臺灣的族群、荷蘭 (FNE)、中國 (FCH) 及韓國大田 (FKOC) 的族群，普遍存在多個來源的現象，但是臺灣的族群排除桃

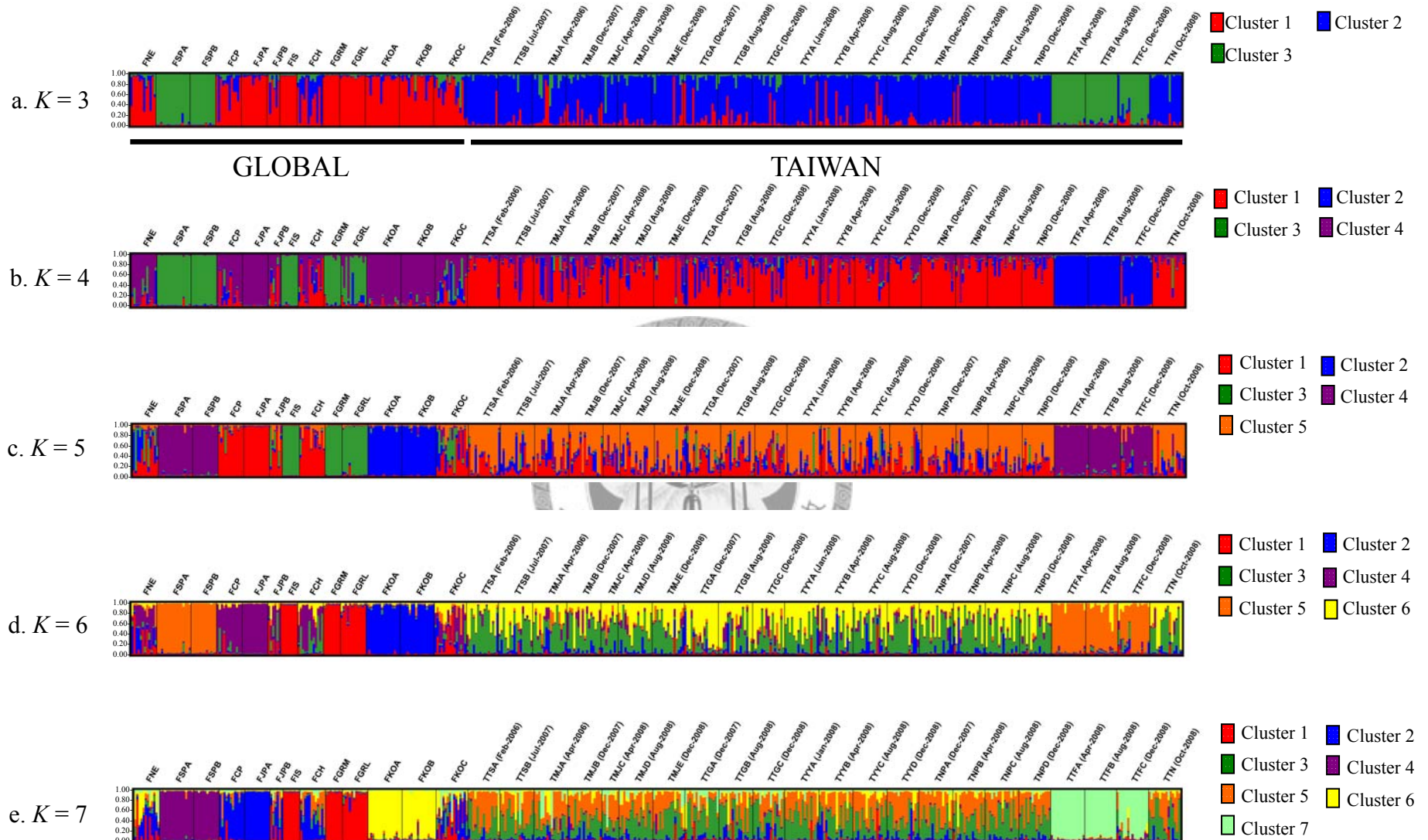


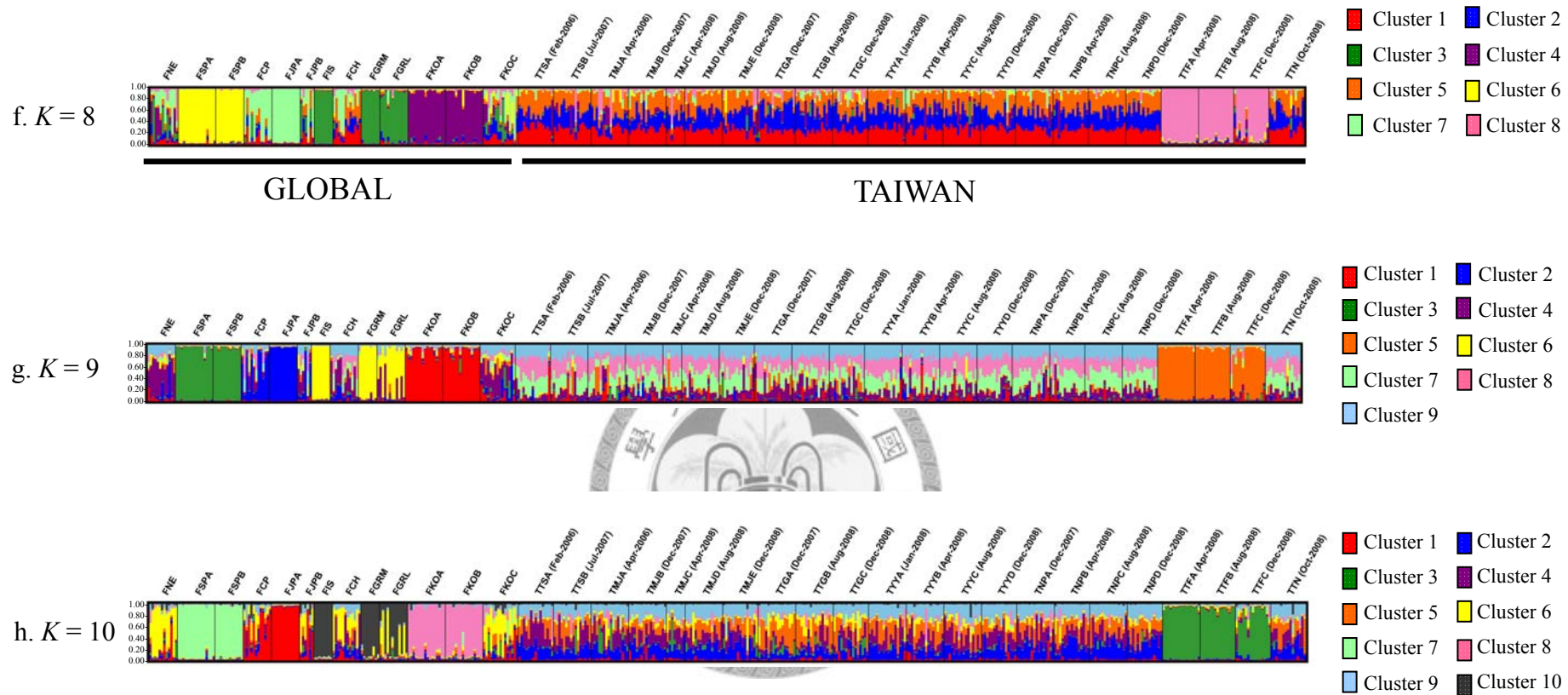
圖六 鄰近法建構臺灣地區 4 個族群間微衛星基因座之親緣關係樹。(a) 2008 年 8 月 (b) 2008 年 12 月。

Fig 6. Unrooted Neighbor-joining trees for August and December 2008 estimated from 4 populations. The distance matrix was calculated among individuals based on microsatellite loci. (a) VIII-2008 (b) XII-2008

園復興的族群，可發現各個族群遺傳結構間，有很高的相似度。此外，桃園復興 (TTF) 的族群，顯然來自於不同的來源族群。雖然臺灣的溫室族群存在多個來源的現象，但是韓國首爾的兩處聖誕紅溫室 (FKOA 和 FKOB)，卻顯示來自相同的來源。以臺灣各個溫室不同的時間點來分析，可以發現經過一段時間後，族群遺傳結構並沒有在分群有明顯的改變。







圖七 微衛星基因座之貝氏分群分析，供試 Q 型生物小種族群分群方式。

Fig 7. Bayesian cluster from the structure of *Bemisia tabaci* biotype Q detected hypothetical clusters based on microsatellite loci.

伍、討論

一、臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種分布情形

臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種的分布地點，由採集調查的記錄發現，目前只分布聖誕紅的溫室中，尚未在野外建立穩定的族群。2008 年 9 月，在連江縣馬祖南竿的西瓜作物上採集到的 12 隻煙草粉蝨，其中有 3 隻 Q 型生物小種 (9 隻為 B 型生物小種)，2008 年 12 月再次前往採集，西瓜作物已移除，而附近的族群，經過鑑定皆非 Q 型生物小種，顯示未在野外建立穩定族群。中國受到煙草粉蝨 Q 型生物小種的入侵，已經在棉花作物上，造成重大的危害 (Zhang *et al.*, 2005)，同樣受到 Q 型生物小種新入侵的國家，日本的熊本、宮崎、鹿兒島和廣島等地區，Q 型生物小種已經在野外建立族群 (Ueda and Brown, 2006)，而韓國扶餘、巨濟、晉州和華城等地區，Q 型生物小種可在戶外的雜草上建立族群 (Lee *et al.*, 2005)，2008 年實驗室對於韓國的調查發現，大田市野外亦有 Q 型生物小種的分布，顯示 Q 型生物小種在溫帶氣候國家野外，建立穩定的族群，臺灣地區從首次的調查記錄至今，已經歷經三年的時間，尚未在野外調查到穩定族群，是否原本僅分布在地中海地區的 Q 型生物小種 (Perring, 2001)，由於氣溫或溼度等氣候因素的限制，而無法在臺灣的野外建立穩定的族群，或者是因為 Q 型生物小種，仍然屬於引入和進口的入侵初期 (Hsieh *et al.*, 2008)，還未到達建立族群的階段，則需要持續監測與研究。

B 和 Q 兩型生物小種共存的环境中，B 型生物小種在繁殖率、存活率與發育速度上相對於 Q 型生物小種，有競爭取代的優勢 (Horowitz *et al.*, 2005; Khasdan *et al.*, 2005)。但是由於 Q 型生物小種對於百利普芬 (pyriproxyfen)、益達胺 (imidacloprid) 等化學殺蟲劑有較高的抗藥性 (Horowitz *et al.*, 2005)，因此兩型生物小種在聖誕紅的產季之間，由於殺蟲劑施用量的多寡，有相互消長的現象。西班牙和以色列地區，亦觀察到 Q 和

B 型生物小種共存的現象，族群之間的數量比例，隨著時間和地點呈現不穩定的情況 (Moya *et al.*, 2001; Khasdan *et al.*, 2005)。此外，法國和希臘的溫室環境，也有明顯的共存現象 (Tsagkarakou *et al.*, 2007; Dalmon *et al.*, 2008)。臺灣地區的溫室環境，宜蘭市的溫室 (TYT) 情況特別，每年的春節過後，即停止聖誕紅的栽培，到 7 月再度從其他溫室引進聖誕紅種苗栽培，之間有半年的時間，溫室內屬於雜草叢生的狀況，調查的結果顯示，在聖誕紅的銷售旺季 12 月和停止栽培的季節 4 月，溫室內 100% 為 Q 型生物小種，7 月引進新的聖誕紅種苗，8 月時的調查發現溫室內有 B 和 Q 型生物小種共存的情況，到 12 月時又屬於 100% 為 Q 型生物小種的情況，這項結果顯示臺灣地區溫室內的 Q 型生物小種，與抗藥性的研究相符 (Horowitz *et al.*, 2005)，長期大量施用殺蟲劑，使具有新尼古丁類殺蟲劑抗性的 Q 型生物小種，有生存優勢並在溫室中取代 B 型生物小種。桃園觀音 (TTG) 和南投埔里 (TNP) 等溫室，則出現和國外相同的情況，即 Q 和 B 型生物小種共存的現象。特別是苗栗卓蘭 (TMJ) 的溫室，出現 Q、B、An 和 Na 型生物小種共存的現象，推測由於苗栗卓蘭的溫室屬於半開放的空間，溫室周圍的果園雜草叢生，An 和 Na 型生物小種，可能經由周圍的雜草入侵溫室。桃園復興的族群 (TTF)，雖然在 2008 年 4 月調查到 Q 型生物小種新入侵，但是 Q 型生物小種在 2008 年 8 月和 12 月調查的結果，有逐漸下降的趨勢，反而 B 型生物小種漸漸的取代 Q 型生物小種，推測由於桃園復興的聖誕紅溫室，屬於精緻化的栽培方式，業者希望減少蟲害的同時，亦能兼顧聖誕紅的美觀，所以多種類型殺蟲劑的輪流使用，配合物理防治手動移除長滿粉蝨幼蟲的葉片，以及黃色黏紙的使用，降低煙草粉蝨的密度，為減少對聖誕紅植物產生的藥害，也減少殺蟲劑的使用量，導致 Q 型生物小種在溫室中，無法利用抗藥性的優勢，取代 B 型生物小種。

二、親緣關係之分析

(1) 粒線體 COI 親緣關係樹之探討

粒線體 COI 序列利用鄰接法 (neighbor-joining method) 建構親緣關係樹，可以區別 Q、Q-related、B 和 Ms 型生物小種，結果顯示 Q-related 型生物小種相對於 Q 型生物小種，是較早分化出來的族群，分布於中、西非洲地區，包含迦納、象牙海岸、喀麥隆、辛巴威、奈及利亞等國家 (Boykin *et al.*, 2007)，而 NJ tree 將 Q 型生物小種分為兩群，第 1 群包含敘利亞、土耳其、以色列、塞普路斯和美國等國家的 Q 型生物小種，第 2 群則廣泛包含世界各地的 Q 型生物小種，此群內樹枝長度差異小，表示世界各地 Q 型生物小種之遺傳變異小，推測可能在短時間內人為的散佈所造成。

(2) 微衛星基因座親緣關係樹之探討

利用微衛星基因座作為分子標誌，所建構親緣關係樹 (圖五)，顯示希臘 (FGRM、FGRL)、以色列 (FIS) 和桃園復興 (TTFA) 的族群為同一個支系，bootstrap 值 > 92，有較長的樹枝長度且支持度高，顯示長時間隔離分化的結果，而且顯示桃園復興的族群與希臘 (FGRM、FGRL)、以色列 (FIS) 族群，推測可能有相近的來源。臺灣地區各個聖誕紅溫室之間有相近的親緣關係，表示臺灣地區的溫室族群遺傳變異小，推測可能是基因頻繁的交流所致。Group 3 有韓國首爾兩處聖誕紅溫室族群 (FKOA、FKOB)，與荷蘭 (FNE) 有很接近的親緣關係，而韓國大田市野外所採集的族群 (FKOC)，遺傳結構在貝氏分群 (Bayesian cluster) 的結果，明顯和兩個聖誕紅溫室不同，表示韓國的 Q 型生物小種煙草粉蝨，有多次入侵的現象。此外，Group 4、5 中同時包含塞普路斯 (FCP) 歐洲國家以及日本 (FJPA) 和中國 (FCH) 等亞洲國家，並不符合隔離分化 (isolation by distance) 的關係 (Wright, 1943)，表示新入侵亞洲地區的 Q 型生物小種，可能透過人為的活動自歐洲引進。

由於國外樣本的微衛星 DNA 資料，僅有 8 個國家的 13 個樣本，無法與 COI 序列的親緣關係樹做詳細的比對，但結果仍然可以發現以色列 (FIS)、塞浦路斯 (FCP)、希臘 (FGRM、FGRL) 和荷蘭 (FNE) 五個族群，COI 序列和微衛星 DNA 所建立的親緣關係樹有不一致的現象。COI 的資料顯示以色列 (FIS) 和塞浦路斯 (FCP) 同屬於單倍型 H44，有相近的親緣關係，希臘 (FGRM、FGRL) 屬於單倍型 H35，兩個單倍型之間有 6bp 的差異，然而在微衛星 DNA 的資料裡，以色列 (FIS) 的族群與希臘 (FGRM 和 FGRL) 兩族群有相近的親緣關係，同時具有很高的信賴程度，由於 COI 序列是屬於母系遺傳，推測地中海地區的 Q 型生物小種的散佈，屬於雄性擴散的模式，所以即使以色列 (FIS) 和希臘 (FGRM、FGRL) 之間 COI 序列有很高的差異，透過雄性擴散的方式，使以色列和希臘 3 個族群之間，在微衛星 DNA 資料顯示有相近的親緣關係，但是事實是否如此，需要對於地中海地區有不同位置的採集樣本，且需要進一步的證據說明。臺灣地區聖誕紅溫室內的 7 個族群，雖然 COI 序列資料，皆屬於同一個單倍型 (H11)，但是在微衛星 DNA 的資料中，桃園復興溫室內族群 (TTF)，與希臘 (FGRM、FGRL)、以色列 (FIS) 的族群有相近的親緣關係，而其餘 6 個溫室樣本有相近的親緣關係。

對於 2008 年 8 月的 4 個聖誕紅溫室族群 (TTF、TNP、TMJ、TYY)，個體為單位以鄰接法建構親緣關係樹 (圖六)，發現桃園復興 (TTF) 的 15 隻個體為一個單系群，有相近的親緣關係。2008 年 12 月時的採集結果，發現 15 隻個體中，有 11 隻個體呈一個單系群，而另外 4 隻個體，與其他的族群個體有相近的親緣關係，顯示這 4 個月的時間裡，有來自於其他族群的個體，進到桃園復興的聖誕紅溫室，但是由於臺灣地區各個溫室之間的族群遺傳結構相近，所以並無法判斷是由何處的聖誕紅溫室引進，這項結果證明 Q 型生物小種族群，在各個溫室之間藉著聖誕紅種苗交

換有交流的現象。

三、親緣地理學之探討

親緣地理學為歷史性生物地理學 (Avisé *et al.*, 1987)，探討親緣關係的物種其基因譜系與地理分布的相關性，並研究空間分布與時間之關聯性 (Avisé *et al.*, 2000)。最小跨度網狀圖 (MSN) (圖三) 分為 3 個 Group，比對 NJ tree 可知 Group I 為出現在迦納、象牙海岸、喀麥隆、辛巴威、奈及利亞等國家的 Q-related 型生物小種。Q-related 型生物小種遺傳結構與 Q 型生物小種相似，但由於植物受到 Q-related 型生物小種吸食的結果，亦會有 B 和 Ms 型生物小種才會導致的銀葉病 (Boykin *et al.*, 2007)，因此將它獨立成一個 Group，研究的結果發現，Q-related 型生物小種比 Q 型生物小種還早出現，而且各個單倍型之間，有較大的核苷酸的突變數，也顯示 Q-related 型生物小種，在中、西非已經有一段很長的演化歷史。Group II 出現在敘利亞、土耳其、以色列、塞浦路斯等歐亞交界的國家，彼此間也有較大的核苷酸突變數。Group III 廣泛分布於世界各地，除歐洲地區希臘、法國、西班牙、葡萄牙、阿爾及利亞、荷蘭等國家，還包含亞洲、非洲和美洲等國家，雖然 Group II 和 Group III 之間的核苷酸突變數量 6 bp，但是 Group III 內的單倍型，彼此之間核苷酸的突變量為 1~2 bp。因此，Group I 和 Group II 群內和群間核苷酸突變數大，對照地理位置的結果，符合隔離分化的模式 (isolation by distance)，族群間隨著地理距離的增加，族群分化越大，基因交流越小 (Wright, 1943)。推測 Group I 和 Group II 屬於自然擴散的方式散佈，由發源自非洲的 Q-related 型生物小種族群，擴散至歐亞交界處，此處的 Q 型生物小種，已經不能誘發植物銀葉病，並推測歐亞交界是 Q 型生物小種的發源地。此外，Q 型生物小種進到歐洲仍屬於自然擴散的方式，但是 Group III 所包含亞洲、非洲和美洲等國家，顯然不符合隔離分化的模式，遺傳分化並沒有隨著地理距離而增加，

故推測 Q 型生物小種，短期內隨著人類的貿易行為，藉由花卉及農產品的進出口，迅速的擴散至世界各地，包含臺灣、日本、韓國、中國和美國等國家 (Chu *et al.*, 2005; Dennehy *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005; Dalton, 2006; Ueda and Borwn, 2006; Hsieh *et al.*, 2007)。此外，非洲的樣本也指出，蘇丹和摩洛哥有新入侵的族群，而西非的迦納存在原有的 Q-related 型生物小種，亦有回侵的 Q 型生物小種族群。根據目前貿易的數據來看，歐洲多個國家是花卉主要的出口國，根據荷蘭花卉協會 (VBN) 的統計，荷蘭每年出口的花卉約佔全世界出口花卉的六成，而臺灣的聖誕紅業者，每年亦從義大利進口數十種聖誕紅新品系 (莊瀛正私人通訊)，因此花卉的進出口確實提供 Q 型生物小種入侵世界各地的管道。臺灣地區的 Q 型生物小種也藉由花卉的進口，自歐洲進到臺灣。

四、遺傳結構之探討

De Barro *et al.* (2003) 與 Tsagkarakou and Roditakis (2003) 相繼發表 15 和 10 個微衛星基因座的引子開始，隨後又有多個引子陸續被發表 (Delatte *et al.*, 2005; Tsagkarakou *et al.*, 2007; Gauthier *et al.*, 2008)，研究也開始利用微衛星基因座作為分子標誌，研究煙草粉蝨各個族群的遺傳結構和親緣關係，其中又可分成同型生物小種的研究 (Simon *et al.*, 2007; Tsagkarakou *et al.*, 2007; Dalmon *et al.*, 2008)，及不同型生物小種的探討 (De Barro *et al.*, 2005)，本研究共測試 40 組已發表的微衛星基因座引子，發現只有 22 組引子適用在 Q 型生物小種上，說明不同型的生物小種，具有相當的遺傳差異。

利用 COI 序列分析臺灣地區溫室內的族群 (每個族群 3 筆定序資料)，可以發現兩個單倍型，其中一個單倍型分布在所有的溫室中，而宜蘭市的溫室發現另一個單倍型。特別的是 COI 的結果顯示，桃園復興族群 (TTFA、TTFB 和 TTFC) 的 9 筆 COI 序列與臺灣地區其它聖誕紅田的

Q 型生物小種，有 100% 相似度，但是微衛星基因座的研究結果，顯示桃園復興的族群遺傳結構，和其他族群不同，所以研究同種生物的遺傳結構，或者是探討近期的入侵事件和瓶頸效應，微衛星基因座顯然是一個良好的分子標記 (Le Roux and Wieczorek, 2009)。

大部分生物族群都會受到演化機制的影響，導致族群結構改變。如族群過小容易發生基因漂變 (genetic drift)，此外遷移 (migration) 所造成的基因流動 (gene flow)，及族群結構受天擇 (natural selection)、突變 (mutation) 或交配型式 (system of mating) 等的影響都可能使族群偏離哈溫預期。哈溫平衡 (Hardy-Weinberg) 檢測，顯示苗栗卓蘭兩筆樣本 (TMJD 和 TMJE)，顯著偏離哈溫平衡 (Hardy-Weinberg)，在希臘由野外帶回至實驗室飼養的族群 (FGRL)，也都有相似的情況。檢測異型結合子的比例，發現有異型結合子不足的情況，造成異型結合子不足的原因有：(1) 基因座受天擇作用；(2) 天擇作用某基因，而基因與基因座連鎖；(3) 有無效的對偶基因；(4) 近親交配的結果；(5) 族群合併效應，檢測的結果排除基因座連鎖和無效對偶基因兩種情形，然而近親交配指數，卻顯示這 3 筆樣本，有顯著近親交配的情況，所以是由近親交配的結果異型結合子不足，由此可知煙草粉蝨在遺傳結構會受到外來因素的影響 (Tsagkarakou *et al.*, 2007; Dalmon *et al.*, 2008)。臺灣地區各族群內近親交配的資料結果，由於族群分布於溫室中，自然遷徙的能力有限，不同溫室族群，交流量不高，因此提高近親交配的可能性。國外的樣本中，希臘 (FGRL) 族群的 F_{IS} 值高達 0.187，推測原因是由於採集的地點，雖然是希臘南方的 Crete 島，但是學者 Tsagkarakou 所寄來的樣本，是屬於野外帶回至實驗室中飼養的族群，導致族群高度顯著偏離哈溫平衡預測，而偏離的原因來自於小族群近親交配的結果。

五、入侵模式和擴散方式之探討

生物入侵過程可分為四個主要時期：進口、引入、立基和危害，外來生物通常需藉著一段時間內，多次的入侵才有可能成為有害生物。臺灣地區之 Q 型生物小種，目前僅在培育聖誕紅的溫室裡發現，尚未在野外偵測到，推測臺灣地區之新入侵 Q 型生物小種，尚介於進口與引入階段，未建立族群成為有害生物 (Hsieh *et al.*, 2008)。

本研究發現煙草粉蝨入侵臺灣的次數，至少發生兩次。族群經由貝氏分群分析 (Bayesian cluster) 的結果顯示 (圖七)，臺南善化 (TTS)、苗栗卓蘭 (TMJ)、南投埔里 (TNP)、宜蘭市 (TYY) 和臺北內湖花市 (TTN) 等溫室中的族群，可被分為兩個分群 Cluster 1、Cluster 2 和 Cluster 5，可推論 Q 型生物小種在入侵臺灣時，是由 3 個不同入侵來源，經過溫室之間種苗的交換，而呈現混合的現象，亦或在入侵的來源產地，即包含 3 個分群，而後隨的種苗擴散至各個溫室。

桃園復興 (TTF) 的溫室，在 2007 年 12 月的採集調查，並未發現 Q 型生物小種，在 2008 年 4 月的採集調查時，記錄到 Q 型生物小種，顯示在這段時間，有 Q 型生物小種的新入侵，檢視貝氏分群分析的結構，發現明顯不同於臺灣地區其他溫室的族群，推測是一次單一的入侵事件，藉由微衛星 DNA 資料，檢測族群之間遺傳分化指數，亦發現桃園復興 (TTFA 和 TTFB) 兩個不同時間所採的族群，與其餘臺灣地區溫室內所採集的族群，有較高的遺傳分化指數 (0.2009~0.0727)。此外，利用微衛星 DNA 資料繪製 NJ tree，發現桃園復興 (TTF) 族群與臺灣地區其它 6 個聖誕紅溫室族群，有較遠的親緣關係，與荷蘭的族群的親緣關係較接近的結果，推測桃園復興的族群與以色列和希臘的族群，有較接近的入侵來源。詢問業者的結果，發現該溫室近期自義大利北部，引進新的聖誕紅種苗，而且此品種還在培育階段，尚未在市面和種苗場之間流通。

一般而言，外來入侵種的個體數量相對較少，在入侵成功前的進口和

引進階段族群量亦相對較小，經過一段停滯期 (lag phase) 後，族群量才會快速增加 (log phase)，此創始者效應 (founder effect) 能使族群帶有瓶頸效應的特徵。對於桃園復興的族群，做瓶頸效應的檢測，顯示 2008 年 4 月入侵的初期有瓶頸效應的現象，對偶基因分布亦偏離 L-Shaped。在 2008 年 8 月的樣本，對偶基因分布仍偏離 L-Shaped。在 2008 年 12 月時，對偶基因頻度 (allele frequency) 再度符合 L-Shaped 分布，推測由於其他族群移入，導致遺傳多樣性提高，所以無法檢測出近期的瓶頸效應。此結果顯示溫室之間種苗交換，導致 Q 型生物小種的擴散，提供一項證據。

連江縣馬祖 (TML) 野外所採集的 Q 型生物小種，因為每年自臺灣本島運送至馬祖的聖誕紅高達數千盆，原本推測是隨著聖誕紅由臺灣本島擴散至馬祖，但是經過 COI 序列的比對，發現和臺灣地區溫室內的族群，序列差異達 1~2bp，在 NCBI 網站上比對已有的 COI 序列，發現馬祖的樣本 739bp 的 COI 序列和中國湖南的 COI 序列有 100% 的相似度，故推測來源可能是中國。雖然已經有證據證明，煙草粉蝨單一世代的擴散距離可達 7 公里 (Byrne, 1999)，但目前的研究仍然相信煙草粉蝨無法進行長距離的飛行遷移 (De Barro, 2005)，亦無證據可以說明，煙草粉蝨可以漂洋過海，所以馬祖的族群，是隨著中國農產品進到馬祖，亦或藉由風力的散佈，而擴散至馬祖，仍需要進一步的證據才能說明。

六、監測防治之建議

聖誕紅年產量近幾年來已躍升台灣盆花市場上的第一名，根據統計全臺灣地區每年約生產 150 萬盆的聖誕紅，並銷往全臺灣各地。目前臺灣地區的聖誕紅花卉，三大產地依序為桃園縣、南投縣埔里鎮和苗栗縣卓蘭鎮。目前引進的聖誕紅品系約有一百多種，較常見的有彼得之心、貝利、天鵝絨等，新的品系有草莓鮮奶油、冰火、達文西等。臺灣由世界各地引進各種不同的新品系，每年多達數十種，引進的來源，根據聖誕紅的栽種者的

說法，主要有義大利和美國。不同的聖誕紅田之間，也常有聖誕紅種苗的交換情況。臺灣地區新入侵的煙草粉蝨 Q 型生物小種，是聖誕紅溫室中重要的害蟲之一。若不謹慎的做好防治的工作，可能增加隨著聖誕紅的販賣擴散至野外的機會。

美國在 2005 年 3 月首次報導 Q 型生物小種新入侵，在 4 月份立即成立國家級粉蝨特別工作組織，並設立技術建議委員會，隨後在 4 個月內制定了一系列的應急措施和詳細步驟，包括對 Q 型生物小種的採樣、監測、抗性評估、IPM / 抗性管理、田間種群評估等，具體的任務中可以看到，外來入侵種的基礎研究集中在物種的生物學及控制管理 (Chu *et al.*, 2007)。

本研究利用粒線體 COI 序列作為分子標誌，所建構的最小跨度網狀圖，明顯指出新入侵 Q 型生物小種煙草粉蝨，來自於地中海地區，特別是歐洲溫室花卉的產地國家，隨著引進聖誕紅的種苗而入侵臺灣。雖然防止煙草粉蝨入侵最好的方式，是禁止農產品及花卉的進口，但以現今自由貿易的情況，市場和民眾對糧食的需求等因素，禁止進口顯然不是可行的方法 (Dalton, 2006)。此外，煙草粉蝨的卵微小 (長 $0.205\pm 0.008\text{mm}$ 寬 $0.093\pm 0.004\text{mm}$) 附著於葉背，進口時防疫檢疫不容易偵測，因此花卉在引進過程中的檢疫過程，必需針對歐洲進口的聖誕紅種苗，進行更嚴格的檢疫工作。

由微衛星基因座的研究，貝氏分群 (Bayesian cluster) 分析的結果，顯示臺灣地區各個溫室族群之間，有人為所造成基因交流的現象，而且利用族群的個體所建構的親緣關係樹，也可發現桃園復興的溫室，在 2008 年 8 月到 2008 年 12 月之間，有外來個體的移入。此外，研究的調查發現多處的聖誕紅溫室已經存在 Q 型生物小種煙草粉蝨，但是藉由 2006 年 2 月至 2008 年 7 月所採集調查的 481 筆資料 (Hsieh *et al.*, 2008)，以及自

2008 年 8 月至 2008 年 12 月的 310 筆採集記錄，可知野外目前並沒有 Q 型生物小種穩定族群的分布，顯然 Q 型生物小種在臺灣地區的擴散模式不是透過自然擴散，而是藉由人為的傳播，隨著聖誕紅種苗的交換在各個溫室之間擴散。不同溫室的 Q 型生物小種族群，分化指數 (F_{ST}) 很低，表示各個族群之間有高頻率的基因交流，不同來源的 Q 型生物小種族群，經過基因的交流，可能提升遺傳多樣性，對於環境的適應力 (fitness) 也可能因此提升，所以減少溫室之間種苗的交換，可以防止 Q 型生物小種在溫室之間頻繁的交流。

臺灣地區的溫室，普遍存在 B 和 Q 型生物小種共存的現象。Q 型生物小種對於新尼古丁類 (neonicotinoids) 殺蟲劑，有較高的抗藥性，而 B 型生物小種對於生長調節劑類殺蟲劑 (Insect Growth Regulators, IGR) 具有高度的抗藥性，當 B 和 Q 型生物小種共存時，會因使用的殺蟲劑類型而互有消長，使煙草粉蟲的危害更難防治，導致農作物及花卉作物上相當大的損失 (Horowitz *et al.*, 2005; Khasdan *et al.*, 2005)，因此防治的工作上，僅能以綜合防治的方式，輪流施用四種以上不同藥性種類的殺蟲劑，並配合黃色黏紙誘引成蟲，進行物理性的防治，期望可以降低蟲害密度，減少對植株造成的傷害 (Hsieh *et al.*, 2008)。

若 Q 型生物小種成為成功的入侵者，將對於農業及花卉造成嚴重的損失。因此，在進口檢疫上必須進行偵測以防範再次入侵，對於聖誕紅溫室內，要避免不同地區之煙草粉蟲 Q 型生物小種的交流與混居，造成遺傳多樣性的提升，導致防治方法難度增加。野外環境的煙草粉蟲仍須持續的監測與調查工作，特別是聖誕紅溫室的周圍環境，以及蕃茄、栽培瓜類的溫室環境，若擴散至野外或其他作物的溫室時，能及時發現並做好初期的防治工作。

陸、結論

新入侵煙草粉蝨 (*Bemisia tabaci*) Q 型生物小種於 2006 年 2 月，首度於臺南的亞洲蔬菜研究發展中心被發現，至 2008 年 12 月為止，目前只分布在宜蘭市、桃園復興、桃園觀音、苗栗卓蘭、南投埔里和臺北內湖等地的聖誕紅溫室，顯示尚未擴散至野外並建立穩定族群。

本研究利用粒線體 (mitochondrial) DNA 做為遺傳標記，探討 Q 型生物小種在世界各地的遺傳差異及擴散途徑，Minimum Spanning Network 與 NJ tree 結果顯示 Q 型生物小種的發源地，在以色列、塞浦路斯、敘利亞等歐亞交界的國家，並經由希臘擴散至歐洲，由遺傳差異與地理距離推論屬於自然擴散的模式。歐洲是 Q 型生物小種主要的入侵源，隨著聖誕紅花卉的貿易迅速擴散到世界各地，包含亞洲臺灣、日本、韓國、中國，美洲美國、墨西哥等國家，非洲在摩洛哥和迦納亦有回侵的族群，由於遺傳差異與地理距離無相關，是經由人為貿易的方式擴散，所以歐洲進口的花卉，必須針對煙草粉蝨，擬定適當的防疫檢疫工作。

利用微衛星 (microsatellite loci) DNA 研究族群遺傳結構，藉由貝氏分析 (Bayesian cluster)，顯示臺灣地區的 Q 型生物小種族群，遺傳結構不受地理隔離的影響，呈現高度的相似，溫室內的族群兩兩比較遺傳分化指數很低，證實族群之間有基因交流的現象。親緣關係樹的分析，證實桃園復興的溫室，包含近期新入侵的 Q 型生物小種，以及來自不同溫室的族群，可以判斷臺灣地區的 Q 型生物小種，至少有二個不同的入侵源，而且隨著聖誕紅種苗的交換，在各個溫室之間擴散。所以對於種苗的交換必須擬定適當的方式，避免 Q 型生物小種在溫室之間迅速擴散，此外宣導利用黏紙和四種以上不同類型的殺蟲劑，進行綜合防治工作，降低 Q 型生物小種的危害程度。

2008 年 9 月於馬祖的野外所採集到的 Q 型生物小種，COI 序列經

NCBI 對比後，來源地可能是中國，有可能藉由風力飄洋過海，亦有可能隨著農產品而入侵到馬祖，因此除對於機場和港口的檢疫，也要注意民眾所夾帶的花卉和蔬果。



柒、參考文獻

- Avise, J. C. 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard College Press, Cambridge, London, England.
- Avise, J. C., J. Aronold, R. M. Ball, B. Eldredge, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb, and N. C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18: 489-522.
- Berry, S. D., V. N. Fongdon, C. Rey, D. Rogan, C. Fauquet, and J. K. Brown. 2004. Molecular evidence for five distinct *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) geographic haplotypes associated with cassava plants in sub-Saharan Africa. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97: 852-859.
- Bethke, J. A., F. J. Byrne, G. S. Hodges, C. L. McKenzie, and R. G. Shatters Jr. 2009. First record of the Q biotype of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, in Guatemala. *Phytoparasitica* 37: 61-64.
- Bonato, O., A. Lurette, C. Vidal, and J. Fargues. 2007. Modelling temperature-dependent bionomics of *Bemisia tabaci* (Q-biotype). *Physiol. Entomol.* 32: 50-55.
- Boykin, L. M., R. G. Shatters, R. C. Rosell, C. L. Mckenzie, R. A. Bagnall, P. J. De Barro, and D. R. Frohlich. 2007. Global relationships of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) revealed using Bayesian analysis of mitochondrial COI DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 44: 1306-1319.
- Brown, J. K. 2007. The *Bemisia tabaci* complex: genetic and phenotypic variability drives begomovirus spread and virus diversification. *APS net Features*. Ed. by Franc GD, January 2007. <http://www.apsent.org/online/feature/btabaci/>.
- Brown, J. K., D. R. Frohlich, and R. C. Rosell. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annu. Rev. Entomol.* 40: 511-534.
- Brown, J. K., T. M. Perring, A. D. Cooper, I. D. Bedford, and P. G. Markham. 2000. Genetic analysis of *Bemisia* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations by isoelectric focusing electrophoresis. *Biochem. Genet.* 38: 13-25.

- Byrne, D. N. 1999. Migration and dispersal by the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. Special issue: Aerial dispersal of pests and pathogens. Agric. For. Meteorol. 97: 309-316.
- Chakraborty, R., and L. Jin. 1993. Determination of relatedness between individuals using DNA fingerprinting. Hum. Biol. 65: 875-895.
- Chu, D., F. H. Wan, Y. L. Tao, G. X. Liu, Z. X. Fan, and Y. P. Bi. 2008. Genetic differentiation of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype Q based on mitochondrial DNA markers. Insect Sci. 15: 115-123.
- Chu, D., Y. J. Zhang, B. Cong, B. Y. Xu, Q. J. Wu, and G. R. Zhu. 2005. Sequence analysis of mtDNA COI gene and molecular phylogeny of different geographical populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius). Agric. Sci. China 4: 533-541.
- Chu, D., Y. J. Zhang, and F. H. Wan. 2007. Urgent measures for the control of the invasive *Bemisia tabaci* biotype Q in USA and its enlightenments. China Acad. J. Electronic Publishing House.
- Cornuet, J. M., and G. Luikart. 1996. Description and evaluation of two tests for detecting recent bottlenecks. Genetics 144: 2001-2014.
- Dalmon, A., F. Halkett, M. Granier, H. Delatte, and M. Peterschmitt. 2008. Genetic structure of the invasive pest *Bemisia tabaci*: evidence of limited but persistent genetic differentiation in glasshouse populations. Heredity 100: 316-325.
- Dalton, R. 2006. The Christmas invasion. Nature 443: 898-900.
- De Barro, P. J. 2005. Genetic structure of whitefly *Bemisia tabaci* in the Asia-Pacific region revealed using microsatellite marker. Mol. Ecol. 14: 3695-3718.
- De Barro, P. J., and F. Driver. 1997. Use of RAPD to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Aust. J. Entomol. 36: 149-152.
- De Barro, P. J., F. Driver, J. W. H. Trueman, and J. Curran. 2000. Phylogenetic relationships of world populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) using ribosomal ITS1. Mol. Phylo. Evol. 16: 29-36.
- 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.
- De Barro, P. J., K. D. Scott, G. C. Graham, C. L. Lange, and M. K. Schutze. 2003. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Bemisia tabaci*. *Mol. Ecol. Notes* 3: 42-43.
- De Barro, P. J., J. W. H. Trueman, and D. R. Frohlich. 2005. *Bemisia argentifolii* is a race of *B. tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): the molecular genetic differentiation of *B. tabaci* populations around the world. *Bull. Entomol. Res.* 95: 193-203.
- De Barro, P. J., S. H. Hidayat, D. Frohlich, S. Subandiyah, and S. Ueda. 2008. A virus and its vector, pepper yellow leaf curl virus and *Bemisia tabaci*, two new invaders of Indonesia. *Biol. Invasion* 10: 411-433.
- De Barro, P. J., K. D. Scott, G. C. Graham, C. L. Lange, and M. K. Schutze. 2003. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Bemisia tabaci*. *Mol. Ecol. Notes* 3: 40-43.
- De La Rua, P., B. Simon, D. Cifuentes, C. Martinez-Mora, and J. L. Cenis. 2006. New insights into the mitochondrial phylogeny of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Mediterranean Basin. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 44: 25-33.
- Delatte, H., B. Reynaud, M. Granier, L. Thornary, J. M. Lett, R. Goldbach, and M. Peterschmitt. 2005. A new silverleaf-inducing biotype Ms of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) indigenous to the islands of the south-west Indian Ocean. *Bull. Entomol. Res.* 95: 29-35.
- Delatte, H., P. David, M. Granier, J. M. Lett, R. Goldbach, M. Peterschmitt, and B. Reynaud. 2006. Microsatellites reveal extensive geographical, ecological and genetic contacts between invasive and indigenous whitefly biotypes in an insular environment. *Genet. Res. Camb.* 87: 109-124.
- Dennehy, T. J., B. A. DeGain, V. S. Harpold, J. K. Brown, S. Morin, J. A. Fabrick, and R. L. Nichols. 2005. New challenges to management of whitefly resistance to insecticides in Arizona. *Univ. Ariz. Coop. Ext. Veg. Rep.* 32.
- Evanno, G., Regnaut, S., and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of

- individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Frohlich, D. R., I. Torres-Jerez, I. D. Bedford, P. G. Markham, and J. K. Brown. 1999. A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Mol. Ecol.* 8: 1683-1691.
- Garza, J. C., and E. G. Williamson. 2001. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Mol. Ecol.* 10: 305-318.
- Gauthier, N., C. Dalleau-Clouet, and M. E. Bouvret. 2008. Twelve new polymorphic microsatellite loci and PCR multiplexing in the whitefly, *Bemisia tabaci*. *Mol. Ecol. Res.* 8: 1004-1007.
- Gennadius, P. 1889. Disease of tobacco plantations in the Trikonina. The aleyrodid of tobacco. *Ellenike Georgia* 5: 1-3.
- Grant, W. S., and R. S. Waples. 2000. Spatial and temporal scales of genetic variability in marine and anadromous species: Implications for fisheries Oceanography. *In*: Harrison P. J., and T. R. Parosns, eds *Fisheries Oceanography. An integrative approach to fisheries ecology and management*. Blackwell Science, Oxford. pp: 61-93.
- Goldstein, D. B., and C. Schlotterer. 2000. *Microsatellite: evolution and applications*. New York: Oxford University Press. 2 edn.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (Version 2.9.3.2): A computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 86: 485-486.
- Guirao, P., F. Beitia, and J. L. Cenis. 1997. Biotype determination of Spanish populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.* 87: 587-593.
- Hampton, J. O., B. S. S. Peter, L. A. Deryn, E. T. Laurie, P. W. Andrew, D. Jeff, H. Tony, and P. John. 2004. Molecular techniques, wildlife management and the importance of genetic population structure and dispersal: a case study with feral

- pigs. *J. Appl. Ecol.* 41: 735-743.
- Hearne, C. M., S. Ghosh, and J. A. Todd. 1992. Microsatellites for linkage analysis of genetic-traits. *Trends Genet.* 8: 288-294.
- Horowitz, A. R., I. Denholm, K. Gorman, J. L. Cenis, S. Kontsedalov, and I. Ishaaya. 2003. Biotype Q of *Bemisia tabaci* identified in Israel. *Phytoparasitica* 31: 94-98.
- Horowitz, A. R., S. Kontsedalov, V. Khasdan, and I. Ishaaya. 2005. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 58: 216-225.
- Hsieh, C. H., C. H. Wang, and C. C. Ko. 2005. Identification of biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Taiwan Based on Mitochondrial 16S rDNA sequences. *Formosan Entomol.* 25: 255-267 (in Chinese).
- Hsieh, C. H., C. H. Wang, and C. C. Ko. 2006. Analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) species complex and distribution in eastern Asia based on mitochondrial DNA markers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99: 768-775.
- Hsieh, C. H., C. H. Wang, and C. C. Ko. 2007. Evidence from molecular markers and population genetic analyses suggests recent invasions of the western north pacific region by biotypes B and Q of *Bemisia tabaci*. *Environ. Entomol.* 36: 952-961.
- Hsieh, C. H., F. S. Wu, Y. H. Chiang, H. T. Fang, and C. C. Ko. 2008. Identification of a new invasive Q biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Taiwan by molecular markers. *Formosan Entomol.* 28: 221-234. (in Chinese)
- Jiang, Y. X., C. de Blas, I. D. Bedford, G. Nombela, and M. Muniz. 2004. Effect of *Bemisia tabaci* biotype in the transmission of Tomato Yellow Leaf Curl Sardinia Virus (TYLCSV-ES) between tomato and common weeds. *Spanish J. Agr. Res.* 2: 115-119.
- Jones, D. R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *Europ. J. Plant Pathol.* 345: 428-434.
- Khasdan, V., I. Levin, A. Rosner, S. Morin, S. Kontsedalov, L. Maslenin, and A. R. Horowitz. 2005. DNA markers for identifying biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and studying population dynamics. *Bull. Entomol. Res.*

95: 605-613.

- Kiritani, K. 2006. Predicting impacts of global warming on population dynamics and distribution of arthropods in Japan. *Popul. Ecol.* 48: 5-12.
- Ko, C. C., Y. C. Hung, and C. H. Wang. 2007. Sequence characterized amplified region marker for identifying biotype of *Bemisia tabaci* (Hem., Aleyrodidae). *J. Appl. Entomol.* 131: 542-547.
- Le Roux, J., and A. M. Wieczorek. 2009. Molecular systematics and population genetics of biological invasions: towards a better understanding of invasive species management. *Ann. Appl. Biol.* 154: 1-17.
- Lee, M. H., S. K. Kang, S. Y. Lee, H. S. Lee, J. Y. Choi, G. S. Lee, W. Y. Kim, S. W. Lee, S. G. Kim, and K. B. Uhm. 2005. Occurrence of the B- and Q- biotype of *Bemisia tabaci* in Korea. *Korean J. Appl. Entomol.* 44: 169-175.
- Legg, J. P., R. French, D. Rogan, G. Okao-Okuja, and J. K. Brown. 2002. A distinct *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) genotype cluster is associated with the epidemic of severe cassava mosaic virus disease in Uganda. *Mol. Ecol.* 11: 1219-1229.
- Liu, S. S., P. J. De Barro, J. Xu, J. B. Luan, L. S. Zang, Y. M. Ruan, and F. H. Wan. 2007. Asymmetric mating interactions drive widespread invasion and displacement in a whitefly. *Science* 318: 1769-1772.
- Lodge, D. M. 1993. Biological invasions: lessons for ecology. *Trends Ecol. Evol.* 8 : 133-137.
- Luikart, G., and J. M. Cornuet. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conserv. Biol.* 12: 228-237.
- Martinez-Carrillo, J. L., and J. K. Brown. 2007. First report of the Q biotype of the *Bemisia tabaci* in Southern Sonora, Mexico. *Phytoparasitica* 35: 282-284.
- Moya, A., P. Guirao, D. Cifuentes, F. Beitia, and J. L. Cenis. 2001. Genetic diversity of Iberian populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) based on random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. *Mol. Ecol.* 10 : 891-897.

- Muniz, M. 2000. Host suitability of two biotype of *Bemisia tabaci* on some common weeds. *J. Entomol. Exp. Appl.* 95: 63-70.
- Muniz, M., and G. Nombela. 2001. Differential variation in development of the B and Q biotype of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on sweet pepper at constant temperatures *Environ. Entomol.* 30: 720-727.
- Nauen, R., N. Stumpf, and A. Elbert. 2002. Toxicological and mechanistic studies on neonicotinoid cross resistance in Q-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Manag. Sci.* 58: 868-875.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetic* 89: 583-590.
- Nei, M., and S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York, USA.
- Nombela, G., F. Beitia, and M. Muniz. 2001. A differential interaction study of *Bemisia tabaci* Q-biotype on commercial tomato varieties with or without the Mi resistance gene, and comparative host responses with the B-biotype. *Entomol. Exp. Appl.* 98 : 339-344.
- Pascual, S., and C. Callejas. 2004. Intra- and interspecific competition between biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Spain. *Bull. Entomol. Res.* 94: 369-375.
- Perring, T. M. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot.* 20: 725-737.
- Perring, T. M., A. D. Cooper, R. J. Rodriguez, C. A. Farrar, and T. S. Bellows Jr. 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science* 259: 74-77.
- Piry, S., G. Luidart, and J. M. Cornuet. 1999. Bottleneck: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *J. Hered.* 90: 502-503.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Rabello, A. R., P. R. Queiroz, K. C. C. Simoes, C. O. Hiragi, L. H. C. Lima, M. R. V.

- Oliveira, and A. Mehta. 2008. Diversity analysis of *Bemisia tabaci* biotypes: RAPD, PCR-RFLP and sequencing of ITS1 rDNA region. *Genet. Mol. Biol.* 31: 585-590.
- Rauch, N., and R. Nauen. 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 54: 165-176.
- Saito, N., and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- Schug, M. D., T. F. Mackay, and C. F. Aquadro. 1997. Low mutation rates of microsatellite loci in *Drosophila melanogaster*. *Nat. Genet.* 15: 99-102.
- Simon, B., J. L. Cenis, and P. De La Rua. 2007. Distribution patterns of the Q and B biotypes of *Bemisia tabaci* in the Mediterranean Basin based on microsatellite variation. *Entomol. Exp. Appl.* 124: 327-336.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457-462.
- Strand, M., T. A. Prolla, R. M. Liskay, and T. D. Petes. 1993. Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. *Nature* 365: 274-276.
- Takahashi, R. 1936. Some Aleyrodidae, Aphididae, Coccidae (Homoptera), and Thysanoptera from Micronesia. *Tenthredo* 1: 109-120.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24: 1596-1599.
- Tsagkarakou, A., and N. Roditakis. 2003. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Mol. Ecol. Notes* 3: 196-198.
- Tsagkarakou, A., C. S. Tsigenopoulos, K. Gorman, J. Lagnel, and I. D. Bedford. 2007. Biotype status and genetic polymorphism of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Greece: mitochondrial DNA and microsatellites. *Bull. Entomol. Res.* 97: 29-40.

- Ueda, S., and J. K. Brown. 2006. First report of Q biotype of *Bemisia tabaci* in Japan by mitochondrial cytochrome oxidase I sequence analysis. *Phytoparasitica* 34: 405-411.
- Ueda, S., T. Kitamura, K. Kijima, K. I. Honda, and K. Kanmiya. 2009. Distribution and molecular characterization of distinct Asian populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Japan. *J. Appl. Entomol.* doi: 10.1111/j.1439-0418.2008.01379.x
- Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills, and P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes* 4: 535-538.
- Weber, J. L., and C. Wong. 1993. Mutation of human short tandem repeats. *Hum. Mol. Genet.* 2: 1123-1128.
- Weir, B. S., and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Williamson, M. H., and A. Fitter. 1996. The characters of successful invaders. *Biol. Conserv.* 78: 163-170.
- Winters, J. B., and P. M. Waser. 2003. Gene dispersal and outbreeding in a philopatric mammal. *Mol. Ecol.* 12: 2251-2259.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 16: 97-159.
- Yang, C. C., D. De Wayne Shoemaker, W. J. Wu, and C. J. Shih. 2008. Population genetic structure of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, in Taiwan. *Insect Soc.* 55: 54-65.
- Yeh, F. C., and T. J. B. Boyle. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian J. Bot.* 129: 157.
- Zhang, L. P., Y. J. Zhang, W. J. Zhang, Q. J. Wu, B. Y. Xu, and D. Chu. 2005. Analysis of genetic diversity among different geographical populations and determination of biotypes of *Bemisia tabaci* in China. *J. Appl. Entomol.* 129: 121-128.

捌、附錄

附錄一 煙草粉蝨 Q 型生物小種採集記錄

Appendix 1. Sample records of *Bemisia tabaci* biotype Q

| Name | No. | Host plant | Locality of collection | species | Collector/ Date | Biotype |
|------|---------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| FCH | F222 | 棉花 (錦葵科) <i>Gossypium hirsutum</i> | Shandong, China 中國山東省臨淄 | <i>B. tabaci</i> | D. Chu Sep-2007 | Q: 12 隻 |
| FCP | F42 | - | Cyprus | <i>B. tabaci</i> | Ian Beford 13-May-2004 | Q: 12 隻 |
| FGRL | F224 | 胡瓜 (葫蘆科) <i>Cucumis sativus</i> L. | Arvi, Crete Greece | <i>B. tabaci</i> | A. Tsagkarakou 28-Nov-2006 | Q: 12 隻 |
| FGRM | F223 | 胡瓜 (葫蘆科) <i>Cucumis sativus</i> L. | Agrinio, Mainland Greece | <i>B. tabaci</i> | A. Tsagkarakou Nov-2004 | Q: 8 隻 |
| FIS | F61 | - | Israel | <i>B. tabaci</i> | Rami Horowitz 30-May-2006 | Q: 8 隻 |
| FJPA | F57 | 甜椒 (茄科) <i>Capsicum annuum</i> | Kyushu Island, Japan | <i>B. tabaci</i> | Ken-Ichiro Honda 2005 | Q: 12 隻 |
| FJPB | F242 | 大花咸豐草 (菊科) <i>Bidens pilosa</i> | Kumamoto, Kyushu Island, Japan 日本九州熊本水前寺 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 陳俊宏 8-Jul-2008 | Q: 6 隻 |
| | F243 | 野苧蒿 (菊科) <i>Erigeron bonariensis</i> | Kumamoto, Kyushu Island, Japan 日本九州熊本出水神社 | <i>T. vaporariorum</i> | | |
| FKOA | F253~ F257 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | Wandang flower complex Goyang-Si, Kyeonggi-do, Korea | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 黎淑芬 Soo-Jung Suh 6-Sep-2008 | Q: 16 隻 |
| FKOB | F268~ F271 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | Wandang flower complex Goyang-Si, Kyeonggi-do, Korea | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 黎淑芬 Soo-Jung Suh 6-Sep-2008 | Q: 16 隻 |
| | F275 | 辣椒 (茄科) <i>Capsicum frutescens</i> | | <i>B. tabaci</i> | | |
| | F276 | 小米菊 (菊科) <i>Golinsoga parviflora</i> | | <i>B. tabaci</i> <i>T. vaporariorum</i> | | |
| FKOC | F277 | 龍葵 (茄科) <i>Solanum nigrum</i> | Yuseong, Daejeon, Korea | <i>B. tabaci</i> <i>T. vaporariorum</i> | 蔣宜弦 黎淑芬 8-Sep-2008 | Q: 15 隻 |
| | F278 | (桑科) Moraceae | | <i>B. tabaci</i> <i>T. vaporariorum</i> | | |
| | F281 | 葎草 (桑科) <i>Humulus scandens</i> | | <i>B. tabaci</i> | | |
| | F283 | (菊科) Asteraceae | | <i>B. tabaci</i> | | |
| FNE | F13 | 木槿屬 (錦葵科) <i>Hibiscus</i> sp., greenhouse | Netherlands | <i>B. tabaci</i> | M. Jansen 10-Sep-2002 | Q: 12 隻 |
| FSPA | F33 | 胡瓜 (葫蘆科) <i>Cucumis sativus</i> | Spain | <i>B. tabaci</i> | S. Pascual Dec-2003 | Q: 16 隻 |
| FSPB | F34 | 番茄 (茄科) <i>Lycopersicon esculentum</i> | Spain | <i>B. tabaci</i> | S. Pascual Dec-2003 | Q: 12 隻 |
| TLM | 4445 | 西瓜 (葫蘆科) <i>Citrullus lanatus</i> | 連江縣馬祖南竿 | <i>B. tabaci</i> | 謝佳宏 3-Sep-2008 | Q: 3 隻 B: 9 隻 |

| | | | | | | |
|------|------------------------------|--------------------------------------------------|-----------|------------------|-------------------------------|----------------------------------------|
| | 3406 | 聖誕紅 (大戟科)(檸檬雪) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | | | | |
| TMJA | 3407 | 聖誕紅 (大戟科)(彼得之星) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 苗栗縣卓蘭鎮 | <i>B. tabaci</i> | 謝佳宏 1-Apr-2006 | Q: 16 隻 |
| | 3408 | 聖誕紅 (大戟科)(天鵝絨) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | | | | |
| TMJB | 4174~ 4184 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 苗栗縣卓蘭鎮 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 吳復生 20-Dec-2007 | Q: 16 隻 |
| TMJC | 4220 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 苗栗縣卓蘭鎮 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 20-Apr-2008 | Q: 8 隻 B: 3 隻 An: 5 隻 Na: 2 隻 |
| | 4342 | 聖誕紅 (大戟科)(紅絲絨) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | | | | |
| TMJD | 4343 | 聖誕紅 (大戟科)(草莓鮮奶油) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 苗栗鄉卓蘭鎮 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 19-Aug-2008 | Q: 16 隻 |
| | 4344 | 聖誕紅 (大戟科)(桃莉) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | | | | |
| TMJE | 4806 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 苗栗縣卓蘭鎮 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 謝佳宏 18-Dec-2008 | Q: 15 隻 |
| TNPA | 4193~ 4199 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 南投縣埔里鎮 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 29-Dec-2007 | Q: 16 隻 |
| TNPB | 4221~ 4222 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 南投縣埔里鎮 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 22-Apr-2008 | Q: 16 隻 B: 2 隻 |
| TNPC | 4336~ 4339 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 南投鄉埔里鎮 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 19-Aug-2008 | Q: 16 隻 |
| TNPD | 4805 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 南投縣埔里鎮 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 謝佳宏 18-Dec-2008 | Q: 15 隻 |
| TTFA | 4218 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 桃園縣復興鄉三民村 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 20-Apr-2008 | Q: 16 隻 |
| TTFB | 4330 4331 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 桃園縣復興鄉三民村 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 謝佳宏 5-Aug-2008 | Q: 15 隻 B: 6 隻 |
| TTFC | 4797 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 桃園縣復興鄉三民村 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 謝佳宏 17-Dec-2008 | Q: 15 隻 B: 65 隻 |
| TTGA | 4166~ 4173 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 桃園縣觀音鄉 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 吳復生 方華德 20-Dec-2007 | Q: 16 隻 |
| TTGB | 4333 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 桃園縣觀音鄉 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 謝佳宏 5-Aug-2008 | Q: 16 隻 B: 1 隻 |
| TTGC | 4800 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 桃園縣觀音鄉 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 謝佳宏 17-Dec-2008 | Q: 15 隻 B: 3 隻 |
| TTN | 4450 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 台北市內湖花市 | <i>B. tabaci</i> | 謝佳宏 15-Oct-2008 | Q: 15 隻 |
| TTSA | 3028 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 台南縣善化亞蔬 | <i>B. tabaci</i> | 許芸喆 10-Feb-2006 | Q: 15 隻 B: 1 隻 |
| TTSB | 3839 3840 3843 3845 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 台南縣善化亞蔬 | <i>B. tabaci</i> | 謝佳宏 吳復生 16-Jul-2007 | Q: 16 隻 |

| | | | | | | |
|-----|------|-------------------------------------------|-----|------------------|-----------------------------------|-------------------|
| TTY | 4190 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 宜蘭市 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 謝佳宏 吳復生 27-Dec-2007 | Q: 3 隻 |
| TYA | 4201 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 宜蘭市 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 吳復生 方華德 04-Jan-2008 | Q: 16 隻 |
| TYB | 4224 | 龍葵 (茄科) <i>Solanum nigrum</i> | 宜蘭市 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 22-Apr-2008 | Q: 15 隻 |
| | 4225 | 水丁香屬 sp. (柳葉菜科) <i>Ludwigia</i> sp. | | | | |
| TYC | 4334 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 宜蘭市 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 方華德 謝佳宏 5-Aug-2008 | Q: 16 隻 B: 7 隻 |
| TYD | 4802 | 聖誕紅 (大戟科) <i>Euphorbia pulcherrima</i> | 宜蘭市 | <i>B. tabaci</i> | 蔣宜弦 謝佳宏 17-Dec-2008 | Q: 15 隻 |



附錄二 臺灣地區煙草粉蝨 Q 型生物小種粒線體 COI 序列比對結果

Appendix 2. Alignment of cytochrome oxidase I (COI) sequences of *Bemisia tabaci* biotype Q in Taiwan

```

                *      20      *      40      *      60      *      80      *      100     *      120
H11      : .....G..... : 127
H12      : ..... : 127
H11-TLM  : ..... : 127
            TTTCTCATTAAATTAGCAGCGAGGCTGGAAAATTAGAGGTATTTGGAAGGTTGGGcATAATTTATGCTATATTGACTATTGGTATCTTAGGGTTTATTGTTTGAGGACATCATATATTTACAGTTGG

                *      140     *      160     *      180     *      200     *      220     *      240     *
H11      : ..... : 254
H12      : G..... : 254
H11-TLM  : ..... : 254
            aATAGATGTAGATACTCGAGCTTATTTCACTTCAGCTACTATGATTATTGCCGTTCCCTACAGGAATAAAATTTTTAGTTGGCTTGCTACTTTGGGTGGAATAAAGTCCAATAAATTCAGGCCCTT

                260      *      280      *      300      *      320      *      340      *      360      *      380
H11      : ..... : 381
H12      : ..... : 381
H11-TLM  : ..... : 381
            GGCCTTTGATTTACAGGATTTTTATTTTATTTACTATAGGTGGATTAAGTGAATATTCTTGTAACCTCTCTGTAGATGTGTGTTGCATGACACTTATTTTGTGTTGCGCATTTTCATTATG

                *      400     *      420     *      440     *      460     *      480     *      500
H11      : ..... : 508
H12      : ..... : 508
H11-TLM  : ..... : 508
            TCTTATCAATAGGAATTATTTTGTCTATTGTAGGAGGAGTTATCTATTGATTTCCATTAATCTTGGGCTTAACCTTAAATAATTATAGCTTGGTGTCTCAATTTTATATCATGTTTCATTGGAGTAAA

                *      520     *      540     *      560     *      580     *      600     *      620     *
H11      : ..... : 635
H12      : .....C..... : 635
H11-TLM  : ..... : 635
            TTAACTTTTTTCTCAGCATTTTCTTGGTTTGGGGGAATGCCTCGCCGATATTCAGATTATGCTGATTGTTATCTAGTATGGAACAAAATTTCTTCTGCGGGAAGGATTTTGAGTATCATTTCT

                640      *      660      *      680      *      700      *      720      *
H11      : ..... : 739
H12      : ..... : 739
H11-TLM  : ..... : 739
            GTTATTTATTTTATTTATTGTTTTAGAATCTTTTCTCTTTTGCCTTAGTAAGATTTAAGCTTGGTGAAGCAGACATCTAGAATGGAAAATTAAATAAACC
    
```

H11: TNP4196、TTN4450-4、YY4201-2、TTG4166-3、TTF4330-5、TMJ4175、TTS3028-2; H2: TYY4190-1; H11-TLM: TLM4445-1

附錄三 利用 ΔK 選出最適合分群數 K 值為 8

Appendix 3. Maximum probability of ΔK for numbers of populations K was 8

| K | run | Ln(P) | $\alpha 1$ | ΔK |
|-----|-----|----------|------------|------------|
| 1 | 1 | -11570.5 | | - |
| | 2 | -11570.4 | | |
| | 3 | -11570.6 | | |
| | 4 | -11570.5 | | |
| 2 | 1 | -11019.5 | 0.0673 | - |
| | 2 | -11017.2 | 0.0668 | |
| | 3 | -11014.5 | 0.0685 | |
| | 4 | -11015.9 | 0.0665 | |
| 3 | 1 | -10693.2 | 0.0536 | 19.044 |
| | 2 | -10715.1 | 0.0522 | |
| | 3 | -10694.4 | 0.0534 | |
| | 4 | -10700.1 | 0.0532 | |
| 4 | 1 | -10590 | 0.049 | 1.737 |
| | 2 | -10568.8 | 0.0482 | |
| | 3 | -10580 | 0.0469 | |
| | 4 | -10566.1 | 0.0485 | |
| 5 | 1 | -10422.8 | 0.0452 | 8.836 |
| | 2 | -10434.1 | 0.0435 | |
| | 3 | -10442.4 | 0.0454 | |
| | 4 | -10431.4 | 0.0453 | |
| 6 | 1 | -10191.7 | 0.0423 | 10.599 |
| | 2 | -10196.1 | 0.0421 | |
| | 3 | -10194.7 | 0.0419 | |
| | 4 | -10288.5 | 0.0437 | |
| 7 | 1 | -10042.6 | 0.0414 | 0.852 |
| | 2 | -10041.5 | 0.0415 | |
| | 3 | -10051 | 0.0416 | |
| | 4 | -11877.4 | 0.0425 | |
| 8 | 1 | -10012.4 | 0.0407 | 53.567 |
| | 2 | -10011.5 | 0.0406 | |
| | 3 | -9992.7 | 0.0407 | |
| | 4 | -10014.8 | 0.0407 | |
| 9 | 1 | -10049.3 | 0.0389 | 0.049 |
| | 2 | -10072.9 | 0.039 | |
| | 3 | -10033.1 | 0.0392 | |
| | 4 | -10079.6 | 0.0388 | |
| 10 | 1 | -10115.5 | 0.0389 | 1.572 |
| | 2 | -10124.4 | 0.0391 | |
| | 3 | -10077.8 | 0.0391 | |
| | 4 | -10116.7 | 0.0392 | |
| 11 | 1 | -10154.4 | 0.0391 | 1.156 |
| | 2 | -10189.7 | 0.0393 | |
| | 3 | -9986.3 | 0.039 | |
| | 4 | -10172 | 0.0389 | |
| 12 | 1 | -10259.1 | 0.0392 | 1.839 |
| | 2 | -10220.6 | 0.0393 | |
| | 3 | -10223.3 | 0.0392 | |
| | 4 | -10302 | 0.0392 | |
| 13 | 1 | -10276.8 | 0.0394 | 2.002 |
| | 2 | -10288.7 | 0.0393 | |
| | 3 | -10406.9 | 0.0395 | |
| | 4 | -10254.9 | 0.0394 | |
| 14 | 1 | -10538.2 | 0.0394 | 0.898 |
| | 2 | -10390.7 | 0.0394 | |
| | 3 | -10555.8 | 0.0393 | |
| | 4 | -10510.8 | 0.0393 | |
| 15 | 1 | -10698.9 | 0.0395 | - |
| | 2 | -10577.2 | 0.0394 | |
| | 3 | -10662.7 | 0.0397 | |
| | 4 | -10557.4 | 0.0394 | |

