

2022作物有害生物分類與鑑定技術 在植物防檢疫之應用研討會專刊

Proceedings of the Symposium on 2022 the Application of
Crop Pest Classification and Identification Technology in
Plant Health Inspection and Quarantine

主編

陳淑佩、蔡志濃、董耀仁、李啟陽、張淑貞

Edited by Shu-Pei Chen, Jyh-Nong Tsai, Yaw-Jen Dong,
Chi-Yang Lee and Shu-Chen Chang

行政院農業委員會農業試驗所 主辦

Taiwan Agricultural Research Institute, COA

中華植物保護學會 協辦

The Plant Protection Society of Republic of China

中華民國111年08月

農業試驗所特刊 236 號

Special Publication of TARI No. 236

2022 作物有害生物分類與鑑定技術
在植物防檢疫之應用研討會專刊

Proceedings of the Symposium on 2022 the Application
of Crop Pest Classification and Identification
Technology in Plant Health Inspection and Quarantine

主 編

陳淑佩、蔡志濃、董耀仁、李啟陽、張淑貞

Edited by Shu-Pei Chen, Jyh-Nong Tsai, Yaw-Jen Dong,
Chi-Yang Lee and Shu-Chen Chang

主 辦

行政院農業委員會農業試驗所

Taiwan Agricultural Research Institute, COA

協 辦

中華植物保護學會

The Plant Protection Society of Republic of China

中華民國 111 年 8 月

序

國際貿易交流頻繁與氣候暖化，使得外來有害生物或作物關鍵有害生物的組成、發生和分布，明顯受到不同程度的影響，並衝擊環境生態與糧食安全，長期以來受到全球各國高度關注，這當中對於有害生物如何正確的分類與鑑定，並據以研擬妥善的植物有害生物管理策略和措施，是維護作物健康管理之首要。雖然國內植物有害生物的分類與鑑定專家人力有限，卻仍能協助國內植物有害生物鑑定之需求。但考量每年仍有相當多不同屬性的植物有害生物鑑定業務，未來除須持續整合國內既有的專業人力、鑑定技術以及加強國際合作之外，也需導入可提升準確鑑定率並縮短鑑定時程的新技術，同時也可妥善保存已完成鑑定的標本與資訊，建立共享鑑定資訊，達到人才培育與資料治理的目的。

鑑於植物防檢疫有害生物之分類研究、診斷鑑定技術、存證標本及人才培育，為我國植物防檢疫領域的重要根基，本次研討會以植物檢防疫病蟲害的分類與鑑定為主題，邀請來自行政院農業委員會動植物防疫檢疫局、台灣大學、中興大學、彰化師範大學、中山大學、屏東科技大學、財團法人食品工業發展研究所，以及本所應用動物組與植物病理組的專家，就分類研究與鑑定技術之應用進展，如整合傳統形態與分子技術，作為有害生物的分類與鑑定特徵；從實體存證標本與數位影像辨識對鑑定的重要性，乃至當前國際倡議的網絡分類學應用等主題，撰寫報告並進行專題演講，盼與會人員可從國際發展趨勢以及產官學研界的共同需求，思考如何為我國農作物有害生物之分類、鑑定與後續防治應用，研擬可兼顧專業研究與產業應用需求的全方位策略目標，降低有害生物對環境與農業經濟的衝擊。

行政院農業委員會農業試驗所
所長

林學詩 謹識

中華民國 111 年 8 月

「2022 作物有害生物分類與鑑定技術 在植物防檢疫之應用」研討會議程表

主辦機關：行政院農業委員會農業試驗所 主辦/中華植物保護學會 協辦

時間：111年8月17日至111年8月18日 09:30~17:10; 09:30~17:00

8/17 第一天			
時間	講題	主講者/單位	主持人
08:50-09:30	報到		
09:30-09:50	開幕式及來賓致詞、合照	農業試驗所/ 林學詩	所長
09:50-10:30	輸入植物檢疫及檢疫有害生物之檢查與鑑定	動植物防疫檢疫局 植物檢疫組/ 翁壹姿 組長	國立中興大學/ 詹富智 副校長
10:30-11:10	昆蟲蒐藏品、鑑定與分類學對農業的重要性與未來展望	農業試驗所應用動物組/ 石憲宗 組長	
11:10-11:50	成立植物病原與食用菌保存中心之必要性	農業試驗所植物病理組/謝廷芳 組長	
11:50-12:10	綜合討論		
12:10-13:30	中午休息		
分類 議題			
13:30-14:10	網絡分類學-多面向議題的通用鑰匙	國立中興大學昆蟲學系/ 楊正澤 教授	石憲宗 組長
14:10-14:35	檢防疫重要性果實蠅（雙翅目：果實蠅科）診斷鑑定要領	國立台灣大學昆蟲學系/ 蕭旭峰 教授	
14:35-15:00	檢疫入侵高風險的農業蠕類	國立屏東科技大學植物醫學系/ 陳文華 副教授	
15:00-15:25	農地有害蟻類之分類及鑑定技術	國立彰化師範大學生物學系/ 林宗岐 教授	

15:25-15:50	休息時間(海報播放)	
15:50-16:15	鱗翅目有害生物鑑識的現況與挑戰	國立中山大學生物科學系/ 顏聖紘 副教授
16:15-16:40	昆蟲分類在檢疫有害生物的應用-以鞘翅目為例	農業試驗所應用動物組/ 李奇峯 聘 用研究員
16:40-17:10	綜合討論	

8/18 第二天			
時間	講題	主講者/單位	主持人
09:00-09:30	報到		
鑑定技術 議題			
09:30-09:55	重要卵菌綱植物病原菌之分類與鑑定	農業試驗所植物病理組/ 黃晉興 副研究員	謝廷芳 組長
09:55-10:20	茄科作物檢疫病毒與類病毒檢測平台在植物防檢疫之應用	農業試驗所植物病理組/ 鄭櫻慧 副研究員	
10:20-10:45	我國植物檢防疫線蟲之偵測鑑識現況與挑戰	國立台灣大學植物病理與微生物系/ 楊爵因 副教授	
10:45-11:10	命名及鑑定植物病原真菌	國立中興大學植物病理系/ 陳啟予 副教授	
11:10-11:35	植物病原細菌分類與鑑定技術-以軟腐細菌為例	農業試驗所植物病理組/ 蔡佳欣 助理研究員	
11:35-12:00	綜合討論		
12:00-13:30	中午休息		

應 用 議 題			
13:30-13:55	植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台之應用-以介殼蟲為例	農業試驗所應用動物組/ 陳淑佩 研究員	吳文哲 教授
13:55-14:20	影像自動辨識技術在檢防疫介殼蟲害鑑定之應用	國立台灣大學生物機電工程學系/ 郭彥甫 教授	
14:20-14:45	植物及環境細菌之鑑定與保存	財團法人食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心 / 古家榮 研究員	
14:45-15:10	分子技術在重要作物病原真菌的鑑定與偵測	國立中興大學植物病理系/ 王智立 副教授	
15:10-15:35	休息時間(海報播放)		
15:35-16:00	分子技術在防檢疫害蟲鑑定之應用	農業試驗所應用動物組/ 張淑貞 副研究員	
16:00-16:25	掃描式電子顯微鏡在農業昆蟲及蟎類鑑定之應用	農業試驗所應用動物組/ 申屠萱 技佐	
16:25-17:00	綜合討論		

目 錄

輸入植物檢疫及檢疫有害生物之檢查與鑑定	1
翁壹姿	
昆蟲蒐藏品、鑑定與分類學對農業的重要性與未來展望	11
石憲宗	
成立植物病原與食用菌保存中心之必要性	32
謝廷芳	
網絡分類學-多面向議題的通用鑰匙	58
楊正澤	
檢疫重要性果實蠅（雙翅目：果實蠅科）診斷鑑定要領	72
蕭旭峰	
檢疫入侵高風險的農業蠅類	103
陳文華	
農地有害蟻類之分類及鑒定技術	128
林宗岐	
鱗翅目有害生物鑑識的現況與挑戰	153
顏聖紘	
昆蟲分類在檢疫有害生物的應用-以鞘翅目為例	156
李奇峯	
重要卵菌綱植物病原菌之分類與鑑定	167
黃晉興	

茄科作物檢疫病毒與類病毒檢測平台在植物防檢疫之應用	189

鄭櫻慧

我國植物檢疫線蟲之偵測鑑識現況與挑戰	205

楊爵因

命名及鑑定植物病原真菌	222

陳啟予

植物病原細菌分類與鑑定技術-以軟腐細菌為例	241

蔡佳欣

植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台之應用-以介殼蟲為例	250

陳淑佩

影像自動辨識技術在檢防疫介殼蟲害鑑定之應用	259

郭彥甫

植物及環境細菌之鑑定與保存	270

古家榮

分子技術在重要作物病原真菌的鑑定與偵測	278

王智立

分子技術在防檢疫害蟲鑑定之應用	307

張淑貞

掃描式電子顯微鏡在農業昆蟲及蟎類鑑定之應用	325

申屠萱

輸入植物檢疫及檢疫有害生物之檢查與鑑定

周俊男^{1,*} 陳君弢¹ 王惠雯¹ 翁壹姿¹

¹ 行政院農業委員會農業委員會動植物防疫檢疫局

摘要

我國身為 WTO 會員，相關輸入植物檢疫措施須依循 WTO/SPS 協定及相關國際標準、準則及建議，依據科學證據及有害生物之風險採行適當保護水準，以對貿易的影響降為最低。輸入我國之植物或植物產品應依規定向我國植物保護機關(行政院農業委員會農業委員會動植物防疫檢疫局)申請檢疫，經文件審查、貨物核對及取樣檢查，確認無檢出我國關切之檢疫有害生物後，方可輸入。歷年輸入貨物之狀態及檢出有害生物情形等資料，係邊境風險管理的重要參據，為此我國已建立相關鑑定結果登錄系統，透過申報資料介接及大數據分析技術，可針對輸入案件進行風險程度判別，並據以執行適當程度之檢疫檢查，兼具行政效率與風險管理。隨著國際疫情發展及科學技術進步，我國仍應持續強化有害生物鑑定能力及技術開發，俾作為檢疫把關及諮商之重要後盾。

關鍵詞：植物檢疫、有害生物、鑑定、SPS 措施。

前言

檢疫，係就管制物品(植物或植物產品)與有害生物等採行官方管制，以便供觀察、研究或進一步檢查、檢測或處理(IPPC 2022)，係國際間共同認知的管理措施，目的在防杜境外重大疫病蟲害入侵。我國地形及氣候多樣，適合各類有害生物生長繁殖，一旦境外高風

險植物有害生物入侵，恐嚴重危害經濟作物，衝擊我國農業。為避免植物有害生物隨輸入植物產品傳入我國，行政院農業委員會動植物防疫檢疫局(以下簡稱防檢局)依據「植物防疫檢疫法」相關規定，並參據食品安全檢驗與動植物防疫檢疫措施協定(Agreement on Sanitary and Phytosanitary Measures，簡稱 SPS 協定)及國際植物防疫檢疫措施標準

*論文聯繫人

E-mail:ccnan@mail.baphiq.gov.tw

(ISPMs)等國際規範，辦理植物及其產品輸入檢疫，落實邊境管理措施，確保我國為高風險植物有害生物之非疫區(行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 2022)。

各國執行邊境檢疫時，屢有自輸入植物或植物產品檢出有害生物情形，然而依國際規範規定，輸入貨品截獲有害生物時，應有科學證據證明有害生物不符該國適當保護水準，方可採行檢疫措施，故相關有害生物之鑑定技術至關重要，以兼顧風險管理及貿易順暢。

本文將介紹有關檢疫措施之國際規範與我國目前做法，有害生物鑑定對於檢疫之重要性，並透過實際案例分析所面臨之挑戰，使各界對於檢疫及有害生物鑑定有另一個角度的思維。

輸入植物檢疫相關國際規範與我國檢疫規定

「食品安全檢驗與動物植物防疫檢疫措施協定」(Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures，簡稱 SPS 協定)及國際植物保護公約(International Plant Protection Convention, IPPC)為各國應遵循之植物保護規範，其中 SPS 協定係世界貿易組織(World Trade Organization，簡稱 WTO)重要協定之一，同意各國政府有權為保護人類、動物和植物的生命或健康所需，而採行防疫檢疫措施(sanitary and phytosanitary

measures，簡稱 SPS 措施)，並要求相關措施，均須基於科學原理、有充分的科學證據，並在相同及類似情況的會員間，不得恣意或無理地歧視任一會員，亦不得構成對國際貿易之隱藏性限制(WTO 1998)。IPPC 則經 SPS 協定指定研訂相關國際標準、準則與建議，作為 WTO 會員採行 SPS 措施時之參考規範(WTO 1998)。我國雖非 IPPC 締約國，但在入會後必須參照其所訂定的標準採行植物防疫檢疫措施，否則即違反 WTO 會員應盡義務。IPPC 迄今已批准 46 項國際植物防疫檢疫措施標準(International Standards for Phytosanitary Measures,以下簡稱 ISPM)，包含輸入檢疫管制系統指南、有害生物風險評估、非疫區之建立、輸出植物檢疫證明書、國際貿易之木質包裝材料管制準則、國際種子移動等，另有 31 種有害生物診斷作業手冊及 44 種檢疫處理技術(IPPC 2022)。

為履行 IPPC 訂定職責，各國政府應成立官方國家植物保護機關(NPPOs)，負責簽發植物檢疫證明書、有害生物疫情之監測與控制、對植物及其產品之貿易貨品進行檢疫及檢測、建立與維持非疫區狀態。因各國國情及實務需求不同，對於他國輸入之植物或植物產品採行不同檢疫措施。以輸入繁殖植物材料(plant materials for propagation)為例，美國、澳大利亞、中國大陸等國家要求於輸入前，輸入人應向該國植物保護機關申請輸入許可證並依其條件辦理，歐盟、日本等則無輸

入許可證相關規定。另歐盟、美國及日本國家之檢疫條件係明列禁止輸入之植物，未列屬禁止輸入者，除另有規定外，原則核准輸入。而紐西蘭除規定禁止輸入者外，未列入核准輸入項目者，亦不得輸入。衡諸各國檢疫規定架構，對於未核准輸入或明列禁止輸入之植物，然均同意輸出國依輸入國規定提供風險評估資料或建立非疫區、非疫生產點或開發有效之檢疫處理或系統性管理方式，經輸入國完成風險評估後輸入，此亦符合 SPS 協定之最小貿易限制及科學證據原則。

防檢局為我國國家植物保護機關，依據相關國際規範及植物防疫檢疫法執行植物防疫業務。有關輸入檢疫制度說明如下：

(一) 評估植物、植物產品及其他有傳播外來有害生物風險之物品，公告「應實施輸入植物檢疫品目」(貨品號列輸入規定列有 B01 者，即為植物檢疫物)。輸入植物檢疫物應向防檢局申報檢疫，符合相關檢疫規定，且經檢疫合格後，始得輸入(植物防疫檢疫法第 13 條之 1)。

(二) 參酌國際疫情與有害生物文獻資料，評估有害生物入侵風險及入侵後危害程度，公告「中華民國輸入植物或植物產品檢疫規定」，依據有害生物之寄主植物範圍與各國疫情狀態，區分為禁止輸入及有條件輸入之植物或植物產品(植物防疫檢疫法第 14 條第 1 項及第 2 項)。具繁殖能力之植物檢疫物(未帶地下部與

果實之蔬菜及食用菌之子實體除外)未有自該輸出國家、地區輸入之紀錄者，輸入人應依據同法第 14 條第 4 項規定，檢附風險評估所需相關資料，送防檢局辦理首次輸入風險評估，經核准後，始得輸入(植物防疫檢疫法第 14 條第 4 項)。

(三) 輸入植物檢疫物如未依規定繳驗檢疫證明書、繳驗之檢疫證明書所記載事項與檢疫條件規定不符者或經臨場檢疫發現罹染有害生物時，防檢局將依其危害風險，採行限期補正檢疫證明文件、退運、銷燬或檢疫處理(具檢疫處理基準者為限)等措施，以防範有害生物隨輸入貨品傳入我國(植物防疫檢疫法第 16 條及 17 條)。

邊境檢疫取樣作業實務

為於有限人力下執行有效率之取樣方式以落實輸入檢查作業，各國採行之措施各有不同。以美國為例，美國動植物防檢署(Animal and Plant Health Inspection Service·APHIS)依據 ISPM 第 23 號標準「檢查指南(guidelines for Inspection)」和第 31 號標準「貨物取樣方法(methodologies for sampling of consignments)」的執行經驗，自 2011 年底針對輸入繁殖性材料貨櫃試行新取樣準則，依據攜帶疫病蟲害風險程度，計算每個貨櫃應檢查數量，而非如過去一律取樣輸入貨物量之 2%，可有效調整資源和

政策，更精準識別不符合檢疫規定的輸入貨物，以對風險較高的貨物採取適當行動。APHIS 並提醒輸入人應備妥貨物拆卸所需之設備及人力，及妥為安排貨物排放方式，以縮短檢疫通關時程(APHIS 2020)。

另英國已公布自 111 年 7 月 22 日起實施新的輸入貨品取樣頻率表，依產品類別、國家及特定有害生物種類等不同風險等級，採用不同檢疫抽批比例，且各類產品之檢查頻率原則上由植物健康風險專家群每年進行檢視及調整。其中針對歐盟 EU 2019/2072 附件 9 之 C 表所列無須檢附檢疫證明書之產品(包括各國輸入之乾燥及新鮮之鳳梨、椰子(不論是否去殼)、香蕉及椰棗果實與榴槤果實)，不執行輸入檢查。其他各類產品主要依 3%、5%、10%、50%及 100%檢查頻率進行輸入案件之抽批，例如針對來自埃及、波蘭、葡萄牙、羅馬尼亞及西班牙等國之食用馬鈴薯，採 50%檢查頻率，其他國家之食用馬鈴薯則為 3%，種薯則為逐批檢疫。

防檢局自 2017 年引進關務署專家系統概念，並配合推動海運貨櫃集中查驗及提升檢疫效率政策，建置「智慧植物檢疫專家系統-風險管理系統」，經由大數據分析檢出有害生物及不合格案件之產品種類、輸出國及輸入人等資料，依各因子所占權重計算風險等級，再依風險等級決定臨場檢疫比例，兼具提升檢疫效能及彈性運用檢疫人力之優點。其中各因子罹染有害生物之資料，即是透過與植物有害生物偵測鑑定資訊系統進行資料拋

接後進行分析運用(葉及陳)。

檢疫人員臨場檢疫時，依標準作業程序與輸入植物檢疫檢查及取樣數量表抽取一定樣本數攜回實驗室進行檢查，檢查方式包括目視檢查、解剖顯微鏡鏡檢、分離及培養等。檢出疑似活有害昆蟲時，使用毛筆、鑷子或吸蟲管將有害生物收集至採集瓶內，進行初步種類判定；如為蚜蟲、薊馬或蟎類者，可製作成玻片標本並依相關檢定資料檢索自行鑑定或以蟲體樣品送請專家鑑定。另針對栽培介質及附帶栽培介質植物，採柏門氏漏斗法或植物組織切碎浸水進行線蟲分離及水樣鏡檢；其餘有疑似病徵之植物，則取樣送請專家進行進一步的檢查或檢測。此外，為避免新興有害生物隨植物檢疫物貿易而傳入，防檢局亦針對高風險種子、種苗、切枝等進行取樣有害生物監測，雖目視檢查未有發現有害生物，仍取樣後送專家依植物種類及可能存在的高風險有害生物進行監測。

邊境截獲有害生物之處置

依據 SPS 協定，輸入農產品因有害生物發生情形而需採行處置時，均須基於科學原理、有充分的科學證據證明有害生物不符該國適當保護水準。ISPM 第 19 號指導植物保護機關如何訂定該國管制有害生物清單(regulated pest list)，以利作為須採行管制措施以防止其傳入及散播之依據，其中「對某一受威脅地區具有潛在經濟重要性，惟尚未在該地區發生，或雖發生但尚未廣泛分佈且

也有官方防治的有害生物」稱為檢疫有害生物(quarantine pest)·另外·在對於種植用植物時會影響植物之預定用途而產生無法接受的經濟衝擊·需要在成員國境內被管制者稱為管制非檢疫有害生物(regulated non-quarantine Pest)(IPPC 2022)·爰此·於訂定管制有害生物清單時·即須依據科學證據考量風險·而非將所有植物有害生物皆納入管制·SPS 協定與 ISPM 19 著重於隨貨品傳入之有害生物且要求各國應採取適當之檢疫管理措施以順暢貿易·爰其管制有害生物清單與關切生物多樣性所需之外來入侵種清單有所不同·以國際實務為例·日本係於該國「植物檢疫法施行規則」·歐盟依 REGULATION (EU) 2016/2031 訂定管制(檢疫)有害生物清單·另於外來入侵種議題·日本訂有「外來生物法」·歐盟則訂定「Regulation (EU) No 1143/2014」·據以進行外來入侵物種風險評估並公告管制之外來入侵種清單加以管理。

依據我國植物防疫檢疫法第 19 條規定·輸入檢疫物經檢疫結果·證明有有害生物存在·植物檢疫機關應通知輸入人或其代理人·限期將該檢疫物連同其包裝、容器予以消毒、銷燬或退運·所指有害生物以經中央主管機關依第 14 條第 1 項規定公告於「中華民國輸入植物或植物產品檢疫規定」或未確定存在我國之有害生物為限·倘該管制有害生物尚無適當檢疫處理方式·則該植物或植物產品必須退運或銷毀·另輸入我國之植物或植物產品·經檢疫發現可能罹染規定之管制有

害生物種類存在時·其鑑定程序或方式需較長時間·植物檢疫機關可在確定其非為我國已發生之有害生物種類後·對於該可能罹染管制有害生物種類之上分類群(taxa)採取緊急檢疫處理措施(洪·2004)。

另以澳大利亞為例·我國近年輸銷澳大利亞之蘭花植株與切花陸續遭澳方檢出活有害生物·依據澳方規定·於發現未有於澳洲存在紀錄之活生物且未完成風險評估確認非屬該國管制有害生物前·要求貨品應接受其檢疫處理並要求強化輸出貨品之生產及管理·爰此·輸出植物或植物產品·除須強化自身生產圃場、包裝設施及運輸材料與工具之有害生物管理外·於發現新興有害生物時·應儘速完成鑑定並掌握其發生狀況·採行因應防治措施·避免影響我國產品輸銷。

防檢局為強化邊境截獲植物有害生物之鑑定效能·自 89 年起成立相關科技計畫·結合學術及研究機構之專業人力及先進技術與設備·成立病、蟲、草類研究專家群·協助就防檢局各分局植物檢疫課及檢疫站輸入植物檢疫截獲之有害生物或疑似樣本進行鑑定工作·為利資料保存及分析·防檢局更於 91 年 5 月起與國立屏東科技大學植物保護學系及電算中心程式設計師合作·發展植物有害生物偵測鑑定資訊系統·提供樣本基本資料登打、結果登錄、資料查詢及報表產出·相關參與之專家學者亦可利用系統瞭解診斷鑑定作業情形(柯及陳 2001)·為因應資訊系統及資安要求逐年提高·防檢局於 109 年委託中興

大學協助進行系統升級，除依據最新資安需求及實務使用需求進行系統修正、整合與擴充外，並導入資料標準化及智能輸入，搭配現行智慧植物檢疫專家系統，介接並引入檢疫案件基本資料，便利登打人員接續建置有害生物鑑定及監測資料，提升登打作業效能。該系統已陸續累積 21 萬筆餘鑑定結果資料，可作為資料管理及分析應用。

近年來在防檢局檢疫人員及鑑定專家合作下，積極蒐集國際疫情、分析邊境檢疫結果及開發快速鑑定技術，具體針對高風險輸入植物及植物產品採行檢疫強化措施，以防杜有害生物傳入。以茄科蔬菜種子為例，防檢局在掌握國際間茄科種子新興疫情報導及各國更新輸入檢疫管制措施時，即委託專家盤點國內茄屬及番椒屬種子重要病害之檢測技術及啟動邊境監測作業，並依據邊境監測結果，針對來自各國茄科褐皺果病毒(Tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV)、番茄斑駁嵌紋病毒(Tomato mottle mosaic virus, ToMMV)、香瓜茄嵌紋病毒(Pepino mosaic virus, PepMV)及番茄黃化捲葉病毒(Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) 4 種病毒及番茄莖頂矮化類病毒(Tomato apical stunt viroid, TASVd)、馬鈴薯紡錘型塊莖類病毒(Potato spindle tuber viroid, PSTVd)、番椒小果類病毒(Pepper chat fruit viroid, PCFVd)、鯨魚藤潛隱類病毒(Columnea latent viroid, CLVd)、番茄褪綠矮化類病毒(Tomato chlorotic dwarf viroid, TCDVd)及

番茄植株雄化類病毒(Tomato planta macho viroid, TPMVd) 6 種類病毒之寄主種子採行輸入緊急措施，防杜其隨輸入種子傳入(黃及王 2021)。後續在專家協助下，加速完成風險評估，並依據發生國家及其寄主植物訂定個別病原之輸入檢疫規定，惟國際中種子移動頻繁，目前仍持續依邊境截獲病害之種子來源國家事證，滾動式檢討以加強輸入管理措施。

面臨挑戰與精進建議

IPPC 於其公布的「Strategic framework for the International Plant Protection Convention (IPPC) 2020–2030 (2020 至 2030 年國際植物保護公約策略框架)」中指出，進入 21 世紀以來，林產品、食品和農產品貿易額已增加為過去的三倍，且預計這一趨勢將繼續延續。為達到加強全球糧食安全及保護環境免受植物有害生物影響的戰略目標，將全球植物檢疫研究工作的協調及建立診斷實驗室網絡列為重要發展議題(FAO 2021)。而且近年在系統分類學及生物科技等研究不斷完善下，無論分類學或鑑定技術均取得了極大的進步。與此同時，科學界以及整個社會更加認識到生物分類與診斷鑑定面臨的困難，特別是分類專家不足、生物分類知識的差距及缺乏生物分類基礎設施(Petrović 2022)。我國近年由於部分有害生物診斷鑑定技術或科學研究發展之限制，在檢疫措施上亦面臨更多挑戰，需要更多跨單位領域專家

協助，以尋求突破困境的精進作法。

以昆蟲分類研究為例，在人力部分，由於臺灣整體人口基數較小，昆蟲分類研究人員長期較為缺乏，研究範圍無法涵蓋昆蟲各分類群，故較少深入探討非專長分類群之資料，全面彙整分類群名錄之準確性亦較為不足(楊，2001)。

另以輸入栽培介質檢出植食性線蟲為例，我國花卉及種苗產業所需的泥炭苔主要仰賴自歐洲地區進口，而時常自輸入泥炭苔檢出莖線蟲屬、葉芽線蟲屬或根腐線蟲屬線蟲，由於檢出之線蟲蟲口數有限，無法以傳統型態鑑定法進行種的鑑定，而目前國際上亦缺乏該些線蟲種類之分子生物鑑定技術，故暫以是否具有口針作為植食性或腐生性之判別。經屢次檢出具有口針之線蟲，引起該些歐洲生產國家關切，渠等認為此類線蟲並無科學證據證明可對植物造成顯著危害，亦無法於泥炭苔開採或包裝時進行線蟲防治。在為兼顧產業需求、檢疫把關及減少檢疫處理藥劑及作業成本前提下，我國應進行相關國際科學研究資訊之蒐整及分析或進一步試驗，以釐清及認定該些線蟲之風險程度，進而採取適當輸入管理措施，亦鼓勵線蟲專家參與國際合作計畫，蒐集主要貿易國之線蟲種類，必要時可專案自國外輸入線蟲、寄主或土壤水源等進行試驗研究，釐清其食性及危害範圍，進而發展診斷鑑定技術。

另以我國外銷蝴蝶蘭為例，102 年澳方曾要求於我國蘭花輸澳之檢疫條件內增列

Fusarium solani 蝴蝶蘭分離株(*F. solani* f. sp. *phalaenopsis*)為檢疫有害生物，經防檢局諮詢國內專家意見及蒐集相關文獻結果，*F. solani* 蝴蝶蘭分離株與蕙蘭分離株應為相同(Benyon *et al.* 1996)分離株，且澳大利亞境內之蕙蘭根部也有 *F. solani* 之發生紀錄，研判澳大利亞普遍發生的 *F. solani* 與台灣發表的蝴蝶蘭 *F. solani* f. sp. *phalaenopsis* 應屬同一菌群。經向澳方進一步說明及爭取，最終澳方未將其列為檢疫有害生物。鼓勵國內專家搜集他國菌種庫資料，或與他國進行技術合作及調查，或專案輸入菌株進行分析，以利掌握重要病原之國際疫情。

因隨鑑定技術發展、鑑定方式不同致有害生物分類地位改變或自單一種類細分為多種，亦有可能影響既有之貿易，*Erwinia chrysanthemi* 即為一明顯案例。*E. chrysanthemi* 之分類數度變革，於 2005 年納入 *Dickeya* 屬並自單一種群區分為多種，近年來澳大利亞及紐西蘭相繼檢討菌性軟腐病(*D. fangzhongdai*)之輸入檢疫措施，並以其境內未有該病原為由，增加對我國蝴蝶蘭之檢疫限制並提升邊境檢疫要求，造成貿易障礙。為此防檢局委託專家前往遭澳方截獲細菌性軟腐病菌之蘭園進行調查，確認可檢出 *D. fangzhongdai*。*D. fangzhongdai* 雖係自 2016 年始建立之新種，但亦應源自於 *E. chrysanthemi*，且澳大利亞及紐西蘭亦有 *E. chrysanthemi* 發生紀錄(Š. Alič *et al.* 2017)。防檢局爰據此除持續提升蘭園業者衛生安全

及病害管理同時，亦持續與澳紐兩國檢疫單位爭取合理之適當保護水準，避免造成我國蝴蝶蘭貿易障礙。

綜上，因有害生物鑑定而引起貿易夥伴國間檢疫措施之爭議及討論情形已逐漸增加，國內分類鑑定發展須鼓勵新進人員加入，並針對研究較少之類群，從事分類研究，強化與國際專家之交流，建立相互協助機制，使最新之分類及相關資訊能即時更新，以隨時掌握國際分類及鑑定技術之發展，以作為檢疫諮商談判最堅實的後盾。

結語

隨著國際疫情瞬息萬變，各國皆持續滾動式調整輸入檢疫規定，有害生物之檢查與鑑定係為風險評估及訂定檢疫管理措施依據之基石，惟有持續關注國際疫情發展，掌握關鍵及新興有害生物之診斷鑑定技術，於面臨外來有害生物入侵及輸入貿易國調整檢疫措施影響我國貿易時，及時以科學證據爭取我國有利之措施，以順暢貿易並兼顧身為國際社會組織成員善盡國際植物保護之義務及責任。

參考文獻

行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。2022。防檢局 111 年度施政目標與重點。動植物防疫檢疫季刊 71: 4-5。
柯俊成、陳君玳。2001。緒論。P.1-6。91-

-100 年進口植物或其產品檢出害蟲之統計與圖鑑。臺北市：行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。

洪瑞宏。2004。增訂「中華民國輸入植物或植物產品檢疫規定」之「管制有害生物名單」。農政與農情 140。檢自 <https://www.coa.gov.tw/ws.php?id=6110>(Jun. 15, 2022)。

黃國修、王惠雯。2021。國際重要植物檢疫規定簡介。動植物防疫檢疫季刊。68：37-38。

葉郁菁、陳晟鐘。2020。管理風險，精進檢疫 動植物防疫檢疫施政成果與展望。農政與農情。332: 38-41。

楊正澤。2001。防檢疫害蟲標本鑑定與分類之技術。植物重要防檢疫害蟲診斷鑑定研習會專刊。1: 113-138

Andjeljko Petrović. 2022. Sizing the Knowledge Gap in Taxonomy: The Last Dozen Years of Aphidiinae Research. Insects 13 : 170.

APHIS. 2020. Risk-Based Sampling.檢自 <https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/import-information/agriculture-quarantine-inspection/rbs>(Jun. 15, 2022)

Benyon, F., B. A. Summerell, and L. W. Burgess. 1996. Association of Fusarium species with root rot of *Cymbidium* orchids. Australasian

Plant Pathol. 25: 226–228.

FAO. 2021. Strategic Framework for the International Plant Protection Convention (IPPC) 2020–2030 Protecting global plant resources and facilitating safe trade. 檢自 <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cb3995en>(Jun. 15, 2022)。

IPPC. 2022. Adopted Standards (ISPMs)。檢自 <https://www.ippc.int/en/core-activities/standards-setting/ispms/>(Jun. 15, 2022)。

IPPC. 2022. Glossary of phytosanitary terms (as adopted by CPM-16)。檢自

<https://www.ippc.int/en/publications/622/>(Jun. 15, 2022)。

WTO. 1998. Understanding the WTO Agreement on Sanitary and Phytosanitary Measures。檢自 https://www.wto.org/english/tratop_e/sps_e/spsund_e.htm (Jun. 15, 2022)。

Alič, Š.,T. Naglič,M. Tušek-Žnidarič,M. Peterka,M. Ravnikar, and T. Dreo. 2017. Putative new species of the genus *Dickeya* as major soft rot pathogens in *Phalaenopsis* orchid production. Plant Pathol. 66: 1357–1368.

Inspection and identification of Imported phytosanitary and quarantine pest

Chun-nan Chou^{1,*}, Chun-Tao Chen¹, Hui-Wen Wang¹, and Yi-Tzu Weng¹

¹Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture,
Executive Yuan

Abstract

As a member of the WTO, the imported phytosanitary measures must follow the WTO/SPS Agreement and relevant international standards, guidelines and recommendations. While adopting the appropriate protection levels for imports, it should base on scientific evidence and the risk of pests to minimize the impact on trade. Plants or plant products imported into Taiwan should apply for quarantine to the national plant protection organization (Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture) in accordance with relevant regulations. Only after document review, cargo verification and sampling inspection confirming that no quarantine pests of concerned, then the plants or plant products can be imported. The information such as the status of the imported goods and the detection of harmful organisms over the years is an important reference for border risk management. For this purpose, a registration system for the relevant identification results has been established. Through the application data interface and big data analysis technology, the risk level of imported cases can be judged, and the appropriate level of quarantine inspection can be carried out accordingly, which has both administrative efficiency and risk management. With the development of the international epidemic and the advancement of science and technology, the ability of pest identification and technology development should be continuously strengthened to serve as an important backing for quarantine checks and consultations.

Key words: Phytosanitary, pests, identification, sanitary and phytosanitary Measures

*Corresponding author.

E-mail: ccnan@mail.baphiq.gov.tw

昆蟲蒐藏品、鑑定與分類學對農業的重要性與未來展望

石憲宗^{1,*} 陳淑佩^{1,*} 李啟陽¹ 李奇峯^{1,*}

¹行政農業委員會農業試驗所應用動物組。台灣 台中市。

摘要

昆蟲是全球最有價值的生物之一，為人類提供無數的生態服務。在農作物生產過程，對昆蟲物種與生態的瞭解不足，導致錯誤鑑定或失去防治先機，讓其中一些昆蟲變為害蟲狀態，並損害我們的作物和經濟。昆蟲分類學在增強社會經濟方面發揮著重要作用，正確的鑑定和分類可為社會節省成本並改善經濟。支持分類學研究有以下好處，包括有助於記錄本土物種多樣性、評估和利用；透過對益蟲的精準鑑定，並從往昔文獻獲得相關的生物學和生態學資訊，以加速生物防治的應用；同時，植物有害生物檢疫也因快速和準確的鑑定，進而提出明快的決策。本文目的旨就昆蟲蒐藏品、昆蟲鑑定以及昆蟲分類對農業的重要性，提出一個平衡的觀點。

關鍵詞：昆蟲蒐藏、昆蟲鑑定、昆蟲分類、農業。

前言

昆蟲為全球物種最多的生物類群，已定名昆蟲約 100 萬種 (Stork 2018)，學者推估約有 300–550 萬種昆蟲尚未定名 (Sailer 1969; Stork 2018)，顯然人類在完成絕大多數昆蟲物種分類的這條路，尚有一段遙遠的距離。保守估計任何時刻至少有 10 quintillion ($=10^{19}$) 隻活體昆

蟲 (<https://www.si.edu/spotlight/buginfo/bugnos>) 存在於全球，以 2022 年 7 月 1 日全球總人口 79.5 億來看 (<https://www.worldometers.info/world-population/>)，昆蟲數量比人類多出 12.6 億倍以上。在生態系統之中，昆蟲是陸域生態系統擁有最大生物量 (biomass) 的生物，為全部有機物的良好分解者和利用者，提供相當重要的生態服務，全球約有

*論文聯繫人

E-mail: htshih@tari.gov.tw

spchen@tari.gov.tw

chifeng@tari.gov.tw

3/4 的作物種類需藉由昆蟲授粉，才能生產農作物，因此昆蟲對人類生存至關重要 (Jankielsohn 2018; Wagner 2020)。Jankielsohn (2018) 指出造成全球農業生產經濟損失 18% 的植食性昆蟲，其物種數目占有已知昆蟲種數的 0.5%。以人類經濟觀點而言，此類植食性昆蟲被人類定義為農作物害蟲 (crop insect pests)，換算為昆蟲物種數目則有 5000 種，但這 0.5% 害蟲物種卻是人類糧食安全的剋星；另 Savary *et al.* (2019) 統計全球小麥、水稻、玉米、大豆和馬鈴薯等各類重要糧食作物生產熱點之病蟲害種類，大致有 137 種，總計造成 8.1%–41.1% 的產量損失。上開兩篇報告顯示人類現有的防治技術，仍無法有效解決這類經常或重複出現病蟲害的發生、擴散與防治，以昆蟲為例，我們需瞭解害蟲發生的源頭問題 (物種鑑定、行為習性、發生時機、取食習性及寄主範圍等)，才能採取正確與相對應的技術或策略，擬定有別於以往的全方位解決策略。

鑑於植物防檢疫有害生物之分類研究、診斷鑑定技術以及存證標本，為我國植物防檢疫領域的重要研究根基，為此本次研討會以植物檢防疫病蟲害的分類與鑑定為主題，邀請國內專家分享分類研究與鑑定技術之應用進展，包括整合傳統形態與分子技術，作為有害生物的分類與鑑定特徵；從實體存證標本作為鑑定比對依

據的重要性，至當代已發展之數位影像辨識，乃至當前國際倡議的網絡分類學 (cybertaxonomy) 應用等。盼與會人員或讀者，可透過專家的分享與論文內容，從產官學研界的共同需求，思考如何為我國農作物有害生物之分類與鑑定，研擬兼顧基礎與應用研究的願景與策略目標。

本文係以昆蟲蒐藏品、昆蟲分類與昆蟲鑑定對農業的重要性進行闡述，讓產官學研界瞭解現代的分子生物鑑定技術雖已日新月異，國際也有相當多的昆蟲鑑定數位網站，但對於擁有昆蟲實體標本蒐藏的博物館或昆蟲標本館，其於農業和生物相關科學領域的地位，仍無法被任何技術或網站所取代，因為實體標本的蒐藏及其標籤資訊，是昆蟲分類與鑑定、植物防檢疫害蟲 (入侵害蟲)、生物多樣性、農業長期生態系統與氣候變遷等研究的重要素材，唯有正確的分類系統與充分的物種資訊，才能支援各類生物科學產出正確的研究成果，並提供行政機關制定完善法規與政策所需之科學論述，進而解決國家層次的環境、健康與糧食安全課題，同時昆蟲等生物標本蒐藏的科學研究用途與展示，也是持續培育科學人才，並提高公眾支持政策的最佳教育處所。

自林奈氏 (Carl von Linné) 於西元 1758 年出版第 10 版自然系統 (Systema Naturae)，早期的生物分類學家使用顏色及簡單的形態特徵 (例如林

奈以翅之有無，將昆蟲綱分為七個目) (Engel & Kristensen 2013)，作為描述與區辨分類群的依據，歷經 130 餘年，不同的動物分類各自發展不同的動物命名方法，致使國際動物分類學者普遍認為應該制定一部可統一規範動物命名的規約，直至 1889 年全球第一版國際動物命名規約 (International Code of Zoological Nomenclature，下稱 ICZN) 正式出版。昆蟲是動物界的成員，昆蟲分類的物種描述等相關分類作為，亦需遵循 ICZN 規範。由於昆蟲物種龐雜，早期慣用的顏色與簡單形態特徵，隨著時間推進，已無法符合建構昆蟲分類階層/架構 (taxonomic hierarchy) 的需求，因此配合形態觀察儀器 (如解剖顯微鏡、光學顯微鏡、掃描式電子顯微鏡、穿透式電子顯微鏡等) 的進步，昆蟲分類學者逐步開發許多足以釐清不同分類位階 (category) (如種、屬、族、亞科、科、總科、亞目、目) 的獨有特徵 (autapomorphy) 或祖先共有特徵 (synapomorphy) 等形態特徵組，提供物種命名、分類修訂與親緣關係分析所需；除此，昆蟲分類學者在建構高階昆蟲分類體系的過程，也納入行為學、生態學、遺傳學、生化學與分子學等生物學特徵，因此昆蟲分類學是一門整合所有生物分類特徵的綜合性學科。

由於全球存在龐大生物尚未命名的

問題，學者擔心許多物種還未發現與命名之前，可能已遭滅絕，此即所謂的分類障礙 (taxonomic impediment) 問題，為克服此障礙，近三十年來，有些國際學者發展極簡分類法 (minimalist taxonomy)，以單一分子序列特徵、輔以極簡單的形態描述、圖片與寄主資訊，針對生物熱點地區的未命名動物，進行物種命名，此似乎符合 ICZN 的規範，但極簡分類法在標本與特徵的取樣數，備受爭議 (Engel 2021; Zamani et al. 2022)。以當代所使用的表型特徵為例，每個形態至少是由成百上千個基因所組成和表現，這相對於僅使用單一分子序列作為物種區辨的極簡分類法，何者較為嚴謹，已不言而喻。倘若極簡分類法成為動物分類的主流，未來勢必會跳脫 260 餘年所建立的生物分類體系，進而違反 ICZN 促進動物命名具有統一性、穩定性與獨特性的目標，這當中若未謹慎處理，預期會有更多的同物異名 (synonym) 出現，造成各層分類位階 (如種、屬、科、目) 更多的紊亂，也將影響後人援引生物科學研究文獻時，需花費更多時間去驗證其目標研究物種的學名是否正確，或為何變動，更棘手的是，就是錯誤援引終將導致後端的應用研究，付出無效研究的代價，這將使原本想快速解決分類障礙的美意，最終卻成為阻礙科學發展的限制因子，成為科學紊亂

的根源。

昆蟲分類是一門需要存證標本，且需要整合形態、行為、生態、遺傳、生化與分子等生物學特徵，最終方能正確命名、修訂及釐清類緣關係，鑑定則在正確的分類體系下，將目標害蟲逐層正確的判定物種，提供農業與生物相關研究，此為本文提出昆蟲分類是一門具有正本清源、驗明正身、預測價值與有效防治等特性的學科，以呼應本次研討會「分類與鑑定技術在植物防檢疫之應用」的主題。

從研究與社會視角評價昆蟲標本蒐藏品的重要性

保存於自然史博物館及學術機構昆蟲標本館的昆蟲標本，是昆蟲資源在當代與歷史的呈現，也是生命科學研究的重要資源，更能反映一個國家在自然科學研究的水平 (吳等 2008)，這些館藏品又以模式標本 (type specimens) 最具科學價值。由於各館的蒐藏政策不同，蒐藏主題與研究目的也略有差異，加上研究生命科學的儀器和技術發展日新月异，昆蟲標本蒐藏品的保存型式不一，包括 (1) 乾燥型式保存，以保護實體標本的原色及標本特徵，又區分為針插標本 (含展翅展足或未展翅展足兩類針插標本)、紙籤黏貼標本 (針對小型昆蟲的非針插標本，以三角籤或長方籤作為標本載台) 以及瓶裝保存集體乾燥標本 (主要針對具保存價值的

大量同屬或同種的標本)；(2) 浸液標本，是依研究目的而將標本保存在酒精、福馬林與甘油等化學藥劑；(3) 玻片標本，是將標本經過固定、脫水、染色程序所製成；(4) 樹脂包埋標本，是將標本保存於 (通常為教育推廣或商業販賣)；(5) 及至近代，運用分子技術探討分子特徵時，也會運用前開館藏的乾燥或浸液標本，透過特定程序萃取組織中的核酸序列、蛋白質序列等，將之上傳至生物資訊網站 (如 NCBI, EMBnet 和 DDBJ 三大整合型資訊網站旗下的 GenBank, EMBL-EBI 和 DDBJ 資料庫) 進行查詢、分析、比對與登錄。

無論是基於研究或教育推廣目的而蒐藏的昆蟲標本，每件標本攜帶的特徵 (形態、分子與次級代謝產物等特徵) 及其標籤 (採集標籤與鑑定標籤) 資訊，都是昆蟲分門別類的重要依據，這就是「標本會說話」的緣由，因此具有歷史和主題蒐藏的博物館和學術機構昆蟲標本館，其昆蟲蒐藏品的價值，就有如一座昆蟲圖書館 (entomological library)。換言之，將每個區域、國家、洲際之間的標本館資訊，進行系統性的館際合作，就能架構全球性的昆蟲百科圖書館，為相關科學提供豐富、省時、省工的知識服務，其相關研究成果，終將提供行政與立法部門研擬相關政策與法規所需之科學評估依據。為喚起各界對昆蟲等生物標本蒐藏品的重視，本節將從研究與社會視角，精要論述如下。

一、研究視角

昆蟲蒐藏品的研究價值繁多，其核心價值在於所有標本，不僅是當時的存證標本，同時也提供昆蟲分類學者豐富的研究材料，經過分類學者的分門別類，讓所有昆蟲標本找到屬於自己的家，當昆蟲獲得驗明正身之後，不僅可建立目標昆蟲分類群的分類與昆蟲組成等研究基礎，對後續有關昆蟲生態與防治管理等研究，才有辦法進行系統性的紀錄，成為科學研究與政策研擬的共通語言，這也是生物分類學為生命科學研究之母的真諦。

在研究視角部分，有關昆蟲蒐藏品可提供與解決昆蟲分類問題的內容，可參考吳等 (2008)，本文於此僅就昆蟲蒐藏品對農業重要性，擇要論述如下。

(一) 對生物多樣性 (biodiversity) 研究的影響與重要性

生物多樣性 (biodiversity) 議題與人類生存密切相關，早在 1970 年代，生物學家的調查顯示人為開發活動，是導致生物多樣性負面效應的主因，為此掀起各國的生物保育運動，逐漸受到決策者和大眾關注。1992 年 6 月 5 日，聯合國環境與發展大會於巴西里約熱內盧，由各締約國簽署生物多樣性公約 (Convention on Biological Diversity，簡稱 CBD)，迄今全球到底有多少生物物種，三十年來透過不同的理論模型運算，仍僅

止於粗估，其原因錯綜複雜，但涉及跨洲、跨國、跨部門與跨學門等地域、政治、經濟與科學發展程度等巨觀因素的差異。以昆蟲綱 (Insecta) 為例，已定名的昆蟲約有一百萬種 (Stork 2018)，推估尚有 300–550 萬種昆蟲尚未定名 (Sailer 1969; Stork 2018)。

各國大大小小的自然史博物館與學術機構，其所典藏的昆蟲等生物標本和古生物標本，保存並紀錄過去迄今生物多樣性組成的重要資訊，是發展分類學 (taxonomy) 和系統學 (systematics) 的最大集中地，這兩項研究對古生物學 (paleontology)、地質學 (geology)、生物地理學 (biogeography)、氣候研究 (climate study)、生態學 (ecology)、分子生物學 (molecular biology) 和保育生物學 (conservation biology) 等學科，提供了重要的科學根基，也是政府研擬動物領域、人類健康、農業、製藥與生物資源管理等重要政策的參考依據 (Novacek & Goldberg 2013)，同時區域性館藏品 (regional collections) 保存各區域獨特的昆蟲標本，對於全球生物多樣性所存在的分類、地理以及時間上的研究空白，具有填補的重要貢獻，例如學者從區域館藏品，就可研究與分析極度瀕危弄蝶物種 *Oarisma Poweshiek* 的

潛在衰退原因 (Monfils *et al.* 2020)。

世界各地的生物標本蒐藏總量非常龐大，然基於各館資料管理方式及開放程度不一，迄今學者仍無法正確估算全球生物標本的總量，這些落差包括對於標本件數的認定標準不同（各館因空間與人力有限，多數僅能將小型昆蟲乾燥集體標本以瓶裝保存，此僅列為 1 件），且標本資料的記錄方式也不同（受限人力和設備不同，標本登錄方式有紙本或簡單檔案紀錄，即時登錄的標本資料庫仍佔少數）等原因。根據既有文獻紀錄，全球自然史相關標本館大致蒐藏 100 萬個以上的生物分類群，總標本量約 2.5–30 億件標本 (Duckworth *et al.* 1993; OECD 1999; Chapman 2005; Monfils *et al.* 2020)。

為提供全球科學家可快速取得生物多樣性資訊，各國政府應關注並挹注經費，支持發展可持續性的生物資源調查、標本保存以及資訊數位化，透過加入全球生物多樣性資訊機構 (Global Biodiversity Information Facility, 下稱 GBIF)，進行資訊分享，如此才能讓全球生物多樣性研究，達到可持續性發展。儘管有學者認為引用 GBIF 資訊分析生物多樣性或生物地理分布，恐會受歐洲和北美等生物科學調查相對進步國家的資訊影響，導致研究結果會出現區域性權重不同的問題，但在網際網路發達與資訊開放潮流下，運用全球公

開的生物數據資料庫進行相關研究分析，在成本效益與資料廣度上，已不可避免，同時這也可透過其他研究方法，進行資料校正。以 Zattara & Aizen (2021) 的研究為例，為瞭解過去論述蜜蜂衰退現象，僅集中於區域性研究，缺乏全球規模的研究報告，因此透過分析 GBIF 搜錄各國所提供一個多世紀以來可公開獲得的蜜蜂標本資訊，進行全球蜜蜂物種豐度的分析，結果顯示自 1990 年代以來，全球範圍內的蜜蜂物種數量呈現穩定下降，此意味全球的大規模農業化、城市化、土地集約利用以及氣候暖化等複雜因素，將破壞植物授粉昆蟲在生態系統為野生植物和農作物授粉的生態服務效能，並正在引發生態和經濟層面更多的負面後果。

(二) 對農業長期生態系統研究的重要性

昆蟲在其自然生態系統中，代表了許多不同的營養棲位和廣泛的生態功能，昆蟲在生態系統中的主要生態功能 (ecological function) 是生態系統循環 (ecosystem cycling)、授粉、捕食/寄生和分解 (decomposition) (Jankielsohn 2018)。

在全球生態系統的食物網，學者依據不同研究目的，將昆蟲的取食行為或生活方式，歸納為不同的生態功能群 (functional groups in ecology)。其中，依取食習性可歸納為植食性

(phytophagous)、肉食性 (carnivorous)、腐食性 (saprophagous)、雜食性 (omnivorous) 以及吸血性 (hematophagous) 等五大類，每類再依其取食寄主的部位進一步歸類。例如植食性昆蟲可細分為授粉者 (pollinators)、食果者 (frugivorous)、食種子者 (granivorous)、食材性 (xylophagous) 以及食根性 (rizophagous) 等，肉食性昆蟲可細分為捕食者 (predators) 與寄生捕食者 (parasitoids)，腐食性 (saprophagous) 昆蟲則可細分為食碎屑性 (detritophagous)、食糞性 (coprophagous) 及食腐屍性 (necrophagous) 等；依棲地或生活方式歸類者，可區分為水生 (aquatic) 或陸生 (terrestrial) 昆蟲，以及夜行性 (nocturnal) 和日行性 (diurnal) 昆蟲等。

各類功能群昆蟲，在陸域與水域食物網的能量傳遞過程，各自扮演不同的角色，不同功能群昆蟲的組成程度與豐度，也可反映農業生態系統的健康程度。

農業生態系統包括慣行、友善與有機等不同管理強度 (management intensity) 的耕作方式與地景，昆蟲多樣性 (insect diversity) 隨著增強農業管理強度而降低，並造成可支持生態系統健康至關重要的昆蟲科級功能類群，也隨之減少 (Bellamy *et al.* 2018)。以熊蜂 (bumble bees) 為例，在授粉上與蜜蜂都

具有重要的生態系統服務功能，然此類授粉蜂的族群數量、物種數目正在世界範圍內明顯下降，地理分布也有明顯的變化，Nooten & Rehan (2019) 檢查採自野外的四種熊蜂標本，同時也檢查保存於美國新罕布什爾大學昆蟲蒐藏 (the University of New Hampshire Insect Collection, UNHC) 的這四種熊蜂標本，所有這些標本採集年代已橫跨 125 年，研究結果顯示不同熊蜂物種均隨時間推進，往緯度或海拔較高的區域分布，且四種熊蜂的體型大小，均較上一世紀降低，其中體型較大的物種，其種內個體體型下降的程度，更為明顯。以上，顯示昆蟲標本蒐藏品有助於追蹤各類指標昆蟲在農業長期生態系統的種群發展與地理分布變化。

(三) 對植物防檢疫害蟲與入侵害蟲管理的重要性

隨著國際貿易頻繁，入侵有害生物 (invader pests) 在全球各地不斷發生，造成重大的經濟損失。以入侵美國的動、植物和微生物等外來生物為例，每年對環境和經濟造成 1,380 億美元以上的損失，其中害蟲與害蟎每年對農作物 (尚未包括牧場) 與森林植物所造成的經濟損失，至少分別超過 145 億美元 (包括草坪、花園和高爾夫球場的害蟲與蟎蟲的防治成本約 15 億美元) 與 21 億美元，同時

政府還需額外投注 5 億美元 (尚未包括防治森林外來害蟲的成本) 的外來害蟲防治成本 (Pimentel *et al.* 2000; Follett & Neven 2006) , 這些還沒有包括國家需要投注在研究有害生物防治與管理的成本。

為了降低外來入侵有害生物造成社會與經濟的莫大損失, 各國面臨外來或入侵有害生物課題時, 昆蟲分類學者總被賦予鑑定和諮詢的重任, 為此其首要之務, 就是釐清有害生物物種及其來源, 除透過文獻查詢之外, 尚可透過聯繫查詢入侵物種分布地區的相關昆蟲標本館的館藏標本資訊, 以快速搜集該物種的當前分佈資訊, 並進行後續確認入侵種群來源、重建傳播速度以及對生態影響評估等研究, 其研究將可作為植物防檢疫主政機關研擬法規或一般防治策略所需的科學參酌證據。例如 Suarez *et al.* (2001) 透過文獻回顧、博物館蒐藏品和田野調查的綜合分析, 重建過去 100 年入侵阿根廷螞蟥 (*Linepithema humile*) 在入侵美國之後, 其擴散模式包括局部運動和長距離跳躍 (人為方式), 這些也可作為美國或其他國家, 面對相同或其他危害習性相似之外來螞蟥, 參酌研擬妥善的植物檢疫 (phytosanitary) 措施或偵查方法。

除此, 博物館藏品也可被用來衡量入侵物種, 隨時間會與寄主植物彼此產生抗性化學物質 (Suarez & Tsutsui 2004) ,

例如 Berenbaum & Zangerl (1998) 使用美國伊利諾伊大學植物標本館 (the collection of the Herbarium of the University of Illinois) 於 1873–1989 年間之館藏歐洲防風草 (*Pastinaca sativa*) 植物標本, 同時依據植物標本採集地, 從同地理範圍採集當代的歐洲防風草, 研究歐洲防風草扁腹蛾 (the parsnip webworm, *Depressaria pastinacella*) 及其主要寄主植物 – 歐洲防風草 (*P. sativa*) 及野生歐洲防風草, 彼此之間抗性化學物質的變化, 結果顯示植物抗性性狀及昆蟲毒力性狀, 隨著時間產生持續性的變化, 顯示物種在進入新環境後, 具有快速進化反應的潛力。

(四) 監控未知的蟲媒植物病原或蟲媒植物病原的潛在媒介昆蟲

Trivellone *et al.* (2021) 以伊利諾伊州自然史調查中心 (Illinois Natural History Survey, INHS) 館藏 227 件來自全球自然棲地的韌皮部取食習性葉蟬 (phloem-feeding leafhoppers) 為材料, 運用 PCR 技術從此些葉蟬標本體內, 鑑定出六種往昔未知的植物菌質體菌株 (phytoplasma strains), 此顯示自然界上存在許多未知的菌質體菌株以及或菌質體的潛在媒介葉蟬種類, 未來更大規模的調查將有助於瞭解植物菌質體的遺傳多樣性及其媒介葉蟬種類, 為全球農業生態

系統中出現新的植物菌質體疾病，提供早期預警。

(五) 對全球氣候變遷研究的重要性

人們普遍認為，全球氣候變化威脅著生態群落和個體物種的生存，研究人員透過檢查博物館昆蟲標本及其所攜帶的採集資訊，可瞭解氣候暖化的影響，已改變某些昆蟲物種的生物學，造成此些昆蟲族群密度產生變化，並在空間分布進行遷移 (Suarez & Tsutsui 2004)，例如 Parmesan (1996) 在北美調查蛱蝶科的 *Euphydryas editha*，並與博物館館藏標本的歷史紀錄進行比較，發現此種蝴蝶顯著向北移動。

二、社會視角下有形與無形效益之貨幣價值 (monetary value)

(一) 具科學經濟效益

一些與人類生命和生存直接有關的領域，很容易呈現出該領域的經濟效益與研究價值。但遺憾的是，生物分類學、生物系統學、生物多樣性與生態長期調查等基礎生物科學，是全球眾所皆知的重要學門，卻很難向立法與行政部門，提出其貨幣價值，因此經常面臨研究斷炊無以為繼的窘境。以上為全球普遍性存在的現象，因為立法部門審查政府科技計畫經費預算時，希望計畫審查部門，可對

有形與無形的科學研究成果，提出量化績效的定義；對典藏生物標本的標本館或博物館而言，就需要在學術研究、推廣服務、經濟效率、社會與產業效益等績效指標，呈現生物蒐藏品對傳統分類學和系統學、科學教育、國土安全 (生物多樣性、氣候變遷、糧食安全等)、公共衛生安全 (如以分子生物技術檢測館藏西尼羅病毒 (West Nile virus) 病媒蚊標本，確認病媒蚊種群來源) (Fonseca *et al.* 2001)、農業 (如以分子生物技術檢查館藏地中海果蠅 (*Ceratitis capitata*) 標本，重建不同年代的入侵路徑) (Davies *et al.* 1999)、環境變化監測 (環境汙染等) 等不同領域的相關量化價值。這些績效，更多將成為政府制定相關政策所需的科學論述依據，例如制定防止昆蟲傳播具動植物健康風險的風險管控政策、制訂保護自然生態系統和農業資源相關補貼政策所需之指標生物 (昆蟲、鳥類、哺乳動物等) 科學分析結果，這些每年都為政府和利害關係人節省可觀的財政支出。

為此，本文從社會視角，以昆蟲標本蒐藏品為例，特別針對生物科學之母的分類學及其賴以研究的生物標本蒐藏品，提出其所帶來有形與無形的社會經濟效益，讓產官學界可正視昆蟲蒐藏品的保存與應用價值。

事實上，保存許多無形知識與實體昆蟲蒐藏品的各地昆蟲標本館或自然史博

博物館，每年可節省研究人員相當多的時間和經費。Suarez & Tsutsui (2004) 以自身研究經驗為例，一年之內向美國各地標本館商借標本，或到美國國立自然史博物館 (the National Museum of Natural History) 待上一週，所需研究費用僅 100–1,000 美元，如果從美國到阿根廷採集一個月，至少需花費 5,000 美元；學者擴大估算美國國立自然史博物館昆蟲蒐藏部門，在 2002 年接受 265 位學者到館研究的服務，為學術和其他科學機構節省超過 100 萬美元。以上狀況，遍存於各國分類研究學者身上，隨著全球館際標本數位化服務的普及化，將為更多國家及其研究人員節省大量時間和差旅費用。

(二) 具教育及人才培育效益

博物館或昆蟲標本館之館藏品，除可作為昆蟲分類學、系統學、生物地理學、生態學和生物安全等研究素材，對於為大學生和下一代昆蟲學家的職業培訓至關重要 (Lessard *et al.* 2017)。隨著網際網路發達以及多元科學發展需求之下，許多具有悠久歷史傳統的知名博物館或昆蟲標本館，普遍面臨愈來愈難競爭研究或管理為運的經費，造成後續無法有效管理維護或專業分類研究人力不足等問題。但是聯合國教育、科學及文化組織 (UNESCO) 認為博物館搜集的館藏品，是見證和保護自然的主要手段 (UNESCO 2015)，因此

博物館具有科學教育傳播的功能，隨著近代各類型的網路社群網站或平台成立以來，愈來愈多的知名博物館為了教育推播以及維護，逐漸善用 Facebook、Twitter 和 YouTube 等社群網站或平台，進行策展專題的或教育推廣的宣傳推播，吸引訪客並和公眾進行有效互動，同時也從中與用戶進行交流意見，讓博物館有機會聽到用戶的建議，選擇可具體改善管理效能或提升服務品質的意見，最終達到良性互動並提升博物館聲譽 (Lessard *et al.* 2017; Kydros & Vrana 2021)，以達到博物館教育推廣、人才培育與永續經營的目的。

昆蟲分類學與鑑定對農業的重要性以及有待克服的問題

昆蟲學在教育部「中華民國學科標準分類 (106 年 9 月第 5 次修正)」所屬的領域、學門、學類與細學類，分別為自然科學、數學及統計領域/生命科學學門/生物學學類；以及農業領域/農業學門/其他農業學類/植物保護系學類。以上歸類方式，昆蟲學屬於生命科學和農業兩個領域的研究範疇，然昆蟲亦涉及人類健康 (如醫學昆蟲)，因此也與醫藥衛生及社會福利領域有關。

昆蟲學轄下包括許多學科，昆蟲分類與鑑定，是生命科學與農業兩大領域的重要基礎學科，依循國際動物命名規約的分

類作為，可建構趨近於自然血緣關係的分類架構，讓目標昆蟲放在正確的分類位階，因此一個穩定的分類架構，提供昆蟲鑑定的重要基礎。在醫學病媒昆蟲、農業重要昆蟲的往昔研究，已有許多正確鑑定昆蟲，達到快速管控病媒蚊或植物重要害蟲；或因錯誤鑑定昆蟲，造成後續無效防治的實例。

對農業的重要性

生物分類學是研究生物物種之鑑定、分類、描述、命名、系統發育及演化的科學，為所有生命科學之母，提供農業、林業、漁業、畜牧業、植物、動物、微生物、人類健康、動植物檢疫、環境生態保護與生物多樣性管理等生物科學發展的重要根基。與其他所有科學一樣，分類學是基於明確的概念及假設，進行有系統的驗證，它需要一種綜合方法，讓科學家們透過協作使用來自形態學、行為學、生物聲學、生態學、地理、分子、化學、歷史和其他不同研究領域的數據結果，因此分類學為所有生物學學科之中，最具綜合性的學科 (Engel 2021)。

生物分類學是以生物學特徵作為分門別類的依據 (楊 2001)，主要是以形態學 (包括外部形態、內部結構與各部位的比例等) 為基礎，另透過研究行為學 (如直翅目蝗蟲、蟋蟀與螞蟥等分類群的鳴聲特徵)、遺傳學 (如染色體的形態、位置等相關特徵應用)、生態學 (如寄主範圍、棲

息部位) 與生物化學 (如同功異構酶電泳、表皮碳氫化合物) 所取得的特徵，並加上分子特徵 (特別是 DNA 條碼 (DNA barcoding))，共同組成有用的生物學特徵組。

由於地球尚未定名的生物種類繁多，以昆蟲為例，Sailer (1969) 指出全球僅有 1/3 昆蟲被分類定名，倘若以每年命名 8,000 個新物種的研究速度估算，至少還需要 250 年時間才能完成所有昆蟲的定名。這讓分類學家無時無刻都與時間賽跑，以免生物還未被發現就消失，同時有些條碼學者 (barcoders) 為加速發現和定名那些存在於鞘翅目、雙翅目、膜翅目以及鱗翅目的超多樣性昆蟲分類群 (hyperdiverse insect taxon, 指物種歧異度高的昆蟲分類群) (Srivathsan *et al.* 2019)，遂發展出僅依據 DNA 條形碼、照片與簡單描述，就快速發表物種描述之極簡分類法 (minimalist taxonomy)，例如 Sharkey *et al.* (2021) 以此法發表 403 種的哥斯大黎加小繭蜂 (braconids) 新物種，然其被挑戰之處，在於粒線體系統發育經常因多種原因而脫離物種樹，且在地理分布取樣不足，過度依賴單個粒線體條碼 (mitochondrial barcode) 的狀況下，其分類作為實有待商榷 (Zamani *et al.* 2022)。

由於動物學的物種 (species) 為演化和生物多樣性的基本單元，是以生物學

種 (biological species) 為定義 (即自然種群的分類群，其任意兩個性別的個體，可互相交配並繁殖具有生殖能力的後代，與其他種群，彼此具有生殖隔離)。前述僅藉由單一或少數分子序列特徵定名的物種，在動物分類階層/架構的每一個等級/位階 (如種、屬、科、目)，是否具有穩定的遺傳演化速度，就如同形態特徵所建構的絕大多數分類群的物種，即便該分類群使用的形態特徵組，未具種級的區辨性，也是無法解決隱蔽種 (cryptic species) 問題，例如菸草粉蟲種群 (*Bemisia tabaci* species complex) (柯等 2002)。事實上，而眾多定名的動物物種，也沒辦法——由生物學種定義作為檢驗標準，因為許多物種被發現的個體非常稀少，更多的物種，已無法再次被發現。因此，生物分類學應回歸至基本的科學精神，以正本清源、包容性、穩定性與預測價值為核心，運用穩定與有效的形態、分子、生態與生理等多重特徵，作為定名、修訂與遺傳演化的研究與驗證依據。

分類與鑑定的區別，分類是由下而上，物種描述的同時，根據物種之間其特徵組的異同及演化關係，將物種逐級往上分類，放在適當的位階 (屬、科、目)；鑑定則是由上而下，逐級確認至種。以昆蟲為例，昆蟲分類學者是受過完整的分類原理訓練，熟悉且遵守國際動物命名規約，同時也具有撰寫分類研究報告的能力；昆蟲分

類學者所製作的各分類等級的檢索表 (keys)，以 A 科級昆蟲之二叉式檢索表 (dichotomous key) 為例，會使用足以區分為兩群的一或多對的相對診斷特徵 (例如後翅末端可覆蓋腹部末節、後翅末端無法覆蓋腹部末節)，提供使用者選擇，直至完成科內各屬的鑑定。

昆蟲檢索表的使用者，除分類學者外，餘多為大學生物相關系所與行政院農業委員會 (下稱農委會) 各試驗場所的昆蟲專家，以及機場港口檢疫站的植物檢疫人員，其前提須能瞭解昆蟲形態診斷特徵之專業術語，也需有能力判斷檢索表內容是否可用，例如一旦國內或國際上，某類農業重要害蟲的屬級分類群新增物種，此時檢索表就須更新，否則會誤用。至於經常用以快速鑑定物種的 DNA 條碼，其條碼資料庫既有資訊，若是建立在錯誤的形態鑑定基礎，則其比對資訊也將不正確，這些雙邊的困境，就是為何需由條碼學者和昆蟲分類學者彼此互相合作之因。

擬訂適當策略縮短鑑定時程，並培育植物有害生物之分類與鑑定人力

鑒於我國農委會所屬各試驗改良場所，以及教育部所屬大學的昆蟲分類專家人力不多 (蟎類分類專家更少)，面對多元化的農業昆蟲相關鑑定業務愈來愈繁重的實況，昆蟲或蟎類分類專家如何有效解決農政主管機關的鑑定業務，保障國內植

物有害生物防疫需求，並促進農產品外銷暢通，已成植物防疫檢疫領域的重要課題。在行政面，國家已有完備的相關法規、細則和辦法；在執行面，面對植物有害生物可能透過國外農產品進入國境、氣候暖化與極端天氣事件可能有利有害生物族群增長（如暖冬造成水稻第一期作遭受褐飛蟲危害、乾旱引發蟪類與薊馬族群竄升）、隨季風而遷飛（如褐飛蟲、瘤野螟、秋行軍蟲等）等方式，進行主動或被動擴散。以上，動植物防疫檢疫局每年均會針對植物檢疫有害生物及國內植物防疫重要有害生物，編列相關計畫或召開專家會議，委託專家鑑定、偵測與監測，以降低植物有害生物對農業經濟的衝擊，這當中應可透過更彈性的鑑定策略以及建立植物檢防疫重要有害生物科級與重要物種之鑑定共通平台，除了可作為培訓專業鑑定人力，也可達到大幅縮短鑑定時程的可持續性業務目標，有效緩解植物檢疫人員的繁重業務，並克服鑑定專家人力不足的問題。

依據植物防疫檢疫法第14條第1項，中央主管機關得依據有害生物疫情及危害風險，就檢疫物之輸入，公告檢疫規定，採取禁止輸入、依檢疫條件管理與隔離檢疫等檢疫措施，並依此制定於中華民國輸入植物或植物產品檢疫規定（110年11月8日修正）。上開之兩類檢疫措施其相對應的有害生物，分別稱為甲類與乙類有

害生物，至於乙十類的相對應有害生物，即管制類有害生物，其輸入之植物或植物產品，應經適當之檢疫處理，確定該有害生物完全滅除後，始得輸入。綜整以上，甲類檢疫害蟲共有21種、乙類檢疫害蟲共有15種、乙十之管制類害蟲共有342種。以上，有關甲類與乙類檢疫害蟲的物種形態或分子鑑定，國內的昆蟲分類、昆蟲鑑定專家以及植物檢疫人員，已有相關圖鑑與參考文獻可資參考，且已有相關之分子鑑定技術，然對342種乙十管制類害蟲的鑑定，則需建立相對應的鑑定資訊以及存證標本，方能達到縮短鑑定時程，並作為後續培育害蟲鑑定人力的重要資訊。

未來展望

我國目前設有昆蟲標本蒐藏的公部門，包括國立自然科學博物館（下稱科博館）、國立臺灣大學昆蟲學系、國立中興大學昆蟲學系及國立屏東科技大學植物醫學系等，以及農委會農業試驗所（下稱農試所）。以上各館皆依其館藏政策進行蒐藏，除科博館具有博物館層級的維運管理，其餘則由各單位指定學者擔任管理者，作為標本實體蒐藏與商借等科研交流的窗口，各館館藏昆蟲標本迄今皆有一定程度的數位化。

農試所為農委會唯一設置農業昆蟲與蟪類標本館（附錄一）的機關，在應用

動物組與植物病理組，分別編制昆蟲分類與植物病原微生物分類之研究人力，歷年除肩負農作物病蟲害及其生物天敵之相關研究，並針對農政機關與產業需求，提供政策或產業應用之研究服務。以植物病蟲害為例，隨著國際貿易頻繁，植物檢疫人員每年從機場、港口及邊境執行輸入植物檢疫工作時，檢出相當多的外來病蟲害，並將其中之特定病蟲害樣本，後送至農試所進行鑑定；另外農試所同仁在調查國內作物關鍵或新興病蟲害、或於農業環境進行昆蟲、植物病原微生物與食用蕈等資源調查、或自國外昆蟲相關研究機關交換或索取之重要害蟲標本，均會將重要的存證標本及其相關資料，保留於農試所，以作為我國植物防檢疫病蟲害診斷鑑定的比對基礎。

本文以農試所農業昆蟲與蟎類標本館（下稱本館）為例，說明昆蟲蒐藏品、昆蟲分類與鑑定對農業重要性之未來展望。農試所昆蟲分類研究人力，主要編制於應用動物組之昆蟲分類研究室，目前主要業務為半翅目、鞘翅目與部分膜翅目寄生蜂之昆蟲分類、農業重要害蟲之鑑定服務、重要昆蟲之科級（family category）形態鑑定、農業長期生態系統之昆蟲組成分析、植物重要害蟲情報蒐集分析、發展關鍵害蟲數位影像圖索表或鑑定系統等，並由其他具有形態或分子鑑定技術專長的同仁，協助鑑定蟎類、纓翅目、重要果

瓜實蠅與雙翅目蕈蠅，因此農試所也是行政院農委會動植物防疫檢疫局（下稱防檢局）在植物檢防疫害蟲鑑定業務的重要合作夥伴之一。這當中，農試所的昆蟲分類與鑑定相關研究人力，並無法涵蓋農業所有昆蟲類群，為此對於農業其他重要害蟲所屬的目級（order category）分類群，如雙翅目、鱗翅目、直翅目與膜翅目等，甚至在蛛形綱、蟎蜱亞綱的葉蟎、偽葉蟎、細蟎、節蟎與粉蟎等，就須與國內教育部所屬大學昆蟲或生物相關學系的昆蟲與蟎類之分類專家（含退休人員），或是國際學者，進行充分合作。

昆蟲與蟎類為物種多樣性高的節肢動物，也是農業環境作物生產的重要限制因子或生物天敵，加上國際貿易頻繁，植物檢疫人員每年均自輸入農產品檢出害蟲與害蟎，但囿於國內昆蟲與蟎類之就業人力有限，如何保存我國歷年的植物害蟲與害蟎標本及其鑑定資訊，以作為專業資訊傳承、人力培訓與加速鑑定的重要基礎。為此，倘若可透過農試所既有的農業昆蟲與蟎類標本館規模，進行跨機關合作，將防檢局委託各機關鑑定之農業害蟲與害蟎的存證標本，送至農試所保存，並建立統一的存證標本資料庫，使之可擴大為國家農業昆蟲與蟎類標本保存與鑑定中心的資訊平台，讓使用者（國內昆蟲分類或鑑定專家以及植物檢疫人員）可透過線上鑑定、線上學習、資訊共享與協同作業，

建立信任關係，從而打破本位主義迷思，縮短防檢局各分局植物檢疫人員後送害蟲至各機關所需之鑑定時程，讓植物檢疫人員可對檢出害蟲之輸入產品，依法做出適當的處置措施。

以上無論是鑑定中心或各機關從事害蟲鑑定的計畫，則由相關部門妥善編列適當經費，並將標本存放機制納為計畫工作內容，使各方皆可從事最基本的分工合作，屬於可加值產出的成果，則有賴申請其他型式的科技計畫或國際合作，以確保每個時代的植物害蟲實體存證標本與數位影像鑑定資訊，可完整保存國家農業昆蟲與蟎類標本保存與鑑定中心的資訊平台，成為兼顧實體運作與數位保存的可持續性系統。

至於培育公部門的昆蟲與蟎類分類或鑑定人力，在我國有其契機，例如科博館已有昆蟲分類專家並建立完善的標本蒐藏登錄制度；各大學昆蟲或生物相關學系，亦有昆蟲分類學者授課並指導研究生，此類學生未來則可進入生命科學和農業兩個領域的相關研究機關或大學，擔任研究人員。上開，唯一需考量的是各用人機關與人才培育機關（大學昆蟲相關系所），對於昆蟲分類專長研究人力的銜接和養成，需有人力分析與布局的規劃；除此，在昆蟲分類與鑑定之學理與應用部分，如本文前述，昆蟲分類本為綜合性學科，在維持分類系統穩定的前提下，任何足以準

確鑑定的技術，皆為好技術，但為了解決分類障礙，卻預期會製造更多分類障礙的分類作為，則需審慎思考。

參考文獻

石憲宗、何琦琛、陳淑佩。2002。農業試驗所昆蟲與蟎類標本館的館史與特色。博物館專業成長研習：博物館展示實務的合作經驗。65－68頁。國立自然科學博物館編印。臺灣，臺中。72頁。

吳文哲、黃旌集、石憲宗。2008。昆蟲標本在農業與醫學上的重要性。昆蟲與蟎蛛標本資源之管理與應用研討會專刊（黃坤煒、詹美鈴主編）。127－140頁。國立自然科學博物館出版。台中。250頁。

柯俊成、陳秋男、王重雄。2002。菸草粉蟲種群（*Bemisia tabaci* species complex）分類群綜述。台灣昆蟲 22: 307－341。

周樑鑑、邱瑞珍。1987。臺灣省農業試驗所昆蟲標本館簡介。博物館學季刊 1(2):75－76。

楊正澤。2001。防檢疫害蟲標本鑑定與分類之技術。113－138。植物重要防檢疫害蟲診斷鑑定研習會專刊(一)。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局、國立中興大學昆蟲學系。台中。167

頁。

羅幹成。1986。伍、應用動物。農試所四十年發展：第221–264頁。台灣省農業試驗所編印。臺灣，臺中。381頁。

Bellamy, A. S., O. Svensson, P. J. van den Brink, J. Gunnarsson, and M. Tedengren. 2018. Insect community composition and functional roles along a tropical agricultural production gradient. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25: 13426–13438.

Berenbaum, M. R. and A. R. Zangerl. 1998. Chemical phenotype matching between a plant and its insect herbivore. *PNAS* 95: 13743–13748.

Davies N, F. X. Villablanca, and G. K. Roderick. 1999. Bioinvasions of the medfly *Ceratitis capitata*: Source estimation using DNA sequences at multiple intron loci. *Genetics* 153: 351–360.

Denmark, H. A. 1971. Insect identification: What is it? *Fla. Entomol.* 54: 101–104.

Duckworth, W. D., H. H. Genoways, and C. L. Rose. 1993. Preserving Natural Science Collections: Chronicle of our environmental

heritage. *Mammalogy Papers: University of Nebraska State Museum.* 271.<http://digitalcommons.unl.edu/museummammalogy/271>

Engel, M. S. and N. P. Kristensen. 2013. A history of entomological classification. *Annu. Rev. Entomol.* 58: 585–607.

Engel, M. S. 2021. The taxonomic impediment: a shortage of taxonomists, not the lack of technical approaches. *Zool. J. Linn. Soc.* 193: 381–387.

Follett, P. A. and L. G. Neven. 2006. Current trends in quarantine entomology. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 359–385.

Fonseca D. M., S. Campbell, W. J. Crans, M. Mogi, I. Miyagi, T. Toma, M. Bullians, T. G. Andreadis, R. L. Berry, B. Pagac, M. R. Sardelis, and R. C. Wilkerson. 2001. *Aedes (Finlaya) japonicus* (Diptera: Culicidae), a newly recognized mosquito in the United States: Analyses of genetic variation in the United States and putative source populations. *J. Med. Entomol.* 38: 135–146.

Jankielsohn, A. 2018. The importance

- of insects in agricultural ecosystems. *Adv. Entomol.* 6: 62–73.
- Kydros, D. and V. Vrana. 2021.** A Twitter network analysis of European museums. *Mus. Manag. Curatorship*, DOI: 10.1080/09647775. 2021.1894475
- Monfils, A. K., E. R. Krimmel, J. M. Bates, J. E. Bauer, M. W. Belitz, B. C. Cahill, A. M. Caywood, N. S. Cobb, J. B. Colby, S. A. Ellis, D. M. Krejsa, T. D. Levine, T. D. Marsico, T. J. Mayfield-Meyer, J. A. Miller-Camp, R. M. Nelson, M. A. Phillips, M. A. Revelez, D. R. Roberts, R. A. Singer, and J. M. Zaspel. 2020.** Regional collections are an essential component of biodiversity research infrastructure. *BioScience* 70: 1045–1047.
- Novacek, M. J. and S. L. Goldberg. 2013.** Museums and Institutions, Role of. In: Levin S.A. (ed.) *Encyclopedia of Biodiversity*, second edition, Volume 5, pp. 404–420. Waltham, MA: Academic Press.
- OECD (Organization for economic co-operation and development). 1999.** Final report of the OECD megascience forum working group on biological informatics. Paris: OECD Publications.
- Parmesan, C. 1996.** Climate and species' range. *Nature* 382: 765–766.
- Pimentel D, L. Lach, R. Zuniga, and D. Morrison. 2000.** Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *BioScience* 50: 53–65.
- Sailer, R. I. 1969.** A taxonomist's view of environmental research and habitat manipulation. *Proc. Tall Timbers Conf.* 1. 244p.
- Savary, S., L. Willocquet, S. J. Pethybridge, P. Esker, N. McRoberts, and A. Nelson. 2019.** The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nat. Ecol. Evol.* 3: 430–439.
- Sharkey, M. J., D. H. Janzen, W. Hallwachs, E. G. Chapman, M. A. Smith, T. Dapkey, A. Brown, S. Ratnasingham, S. Naik, R. Manjunath, K. Perez, M. Milton, P. Hebert, S. R. Shaw, R. N. Kittel, M. A. Solis, M. A. Metz, P. Z. Goldstein, J. W. Brown, D. L. J. Quicke, C. van Achterberg, B. V.**

- Brown, and J. M. Burns 2021.** Minimalist revision and description of 403 new species in 11 subfamilies of Costa Rican braconid parasitoid wasps, including host records for 219 species. *ZooKeys* 1013: 1–665.
- Short, A. E. Z., T. Dikow, and C. S. Moreau. 2018.** Entomological collections in the age of big data. *Annu. Rev. Entomol.* 63: 513–530.
- Srivathsan, A., E. Hartop, J. Puniamoorthy, W. T. Lee, S. N. Kutty, O. Kurina, and R. Meier. 2019.** Rapid, large-scale species discovery in hyperdiverse taxa using 1D MinION sequencing. *BMC Biol.* 17: 96. <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0706-9>
- Stork, N. E. 2018.** How many species of insects and other terrestrial arthropods are there on earth? *Annu. Rev. Entomol.* 63:31–45.
- Suarez, A. V., D. A. Holway, and T. J. Case. 2001.** Patterns of spread in biological invasions dominated by long-distance jump dispersal: Insights from Argentine ants. *PNAS* 98: 1095–1100.
- Suarez, A. V. and N. D. Tsutsui. 2004.** The value of museum collections for research and society. *BioScience* 54: 66–74.
- Trivellone, V., W. Wei, L. Filippin, and C. H. Dietrich. 2021.** Screening potential insect vectors in a museum biorepository reveals undiscovered diversity of plant pathogens in natural areas. *Ecol. Evol.* 11: 6493–6503.
- UNESCO 2015.** Recommendation concerning the protection and promotion of museums and collections, their diversity and their role in society. (http://portal.unesco.org/en/ev.php-URL_ID%49357&URL_DO%4DO_
- Wagner, D. L. 2020.** Insect declines in the Anthropocene. *Annu. Rev. Entomol.* 65: 457–480.
- Zamani, A., D. D. Pos, Z. F. Fric, A. B. Orfinger, M. D. Scherz, A. S. Bartoňová, and H. F. Gante. 2022.** The future of zoological taxonomy is integrative, not minimalist. *System. Biodivers.* 20: 1, 1–14.
- Zattara, E. E., and M. A. Aizen. 2021.** Worldwide occurrence records suggest a global decline in species richness. *One Earth* 4: 114–123.

附錄一

行政院農業委員會農業試驗所昆蟲與蟎類標本館簡介

行政院農業委員會之農業試驗所 (Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan) 創建於西元 1895 年，初稱為試作場，1900 年改制為臺北縣農事試驗場，至 1903 年研究作物害蟲的昆蟲部門成型，1907 年由素木得一博士 (Dr. Tokuichi Shiraki) 接任當時臺灣總督府農業試驗場的昆蟲部長，將昆蟲標本採集與保存、搜集昆蟲分類文獻、昆蟲標本鑑定與分類等事項，定為昆蟲部的發展方針，1921 年改制為應用動物科 (羅 1986；周及邱 1987；石等 2002)，由於應用動物科成立迄今，雖以農業昆蟲 (害蟲與益蟲) 相關研究為主，然農作物尚有蛛形綱的蟎類、腹足綱的軟體動物類、哺乳綱的鼠類以及鳥綱的鳥類等有害動物危害，這些有害動物也有其天然生物天敵，此為沿用應用動物的名稱由來。以上有關昆蟲部的昆蟲標本蒐藏，部分昆蟲成為農試所的昆蟲標本蒐藏根基。

1945 年之後迄今，應用動物系 (現今之應用動物組) 同仁，藉由執行農試所昆蟲分類自辦計畫，以及參與行政院國家科學委員會 (2014 年改制為科技部)、農

委會以及檢疫局 (1998 年成立) 所支持的重要計畫，對臺灣產昆蟲 (以農業昆蟲為主) 進行分類、鑑定、標本製作保存、資訊建立並發表相關學術報告，這當中對館藏昆蟲 (蟎) 標本蒐藏較具代表性的主題，包括 (1) 農試所歷年自辦計畫支持的農業害蟲 (蟎) 及其天敵之分類與鑑定 (1945 年迄今)；(2) 國科會支持的臺灣昆蟲相調查研究 (1980–1987 年) (周及邱 1987)、鞘翅目金花蟲科 (2007 年迄今) 與葉蟬科分類 (2009–2011 年)；(3) 防檢局支持的進口作物檢出有害生物鑑定 (2000 年迄今)；(4) 農試所自辦計畫支持的生物多樣性之蟲蟎調查與鑑定 (2001–2004 年)；(5) 防檢局支持的金門馬祖與澎湖等外島之植物檢疫害蟲偵查暨植物防疫害蟲調查 (2001–2004 年；2021 年迄今)；(6) 農委會與農試所支持的農業長期生態系統節肢動物相 (2006 年迄今)；(7) 歷年由國際學者提供的植物檢疫害蟲或國外作物重要害蟲等。

以上，自創館以來的標本，均保存在農試所應用動物組的農業昆蟲與蟎類標本館，成為國內外學者研究我國及鄰近地區之農業昆蟲或是植物檢疫害蟲的重要素材，迄今已有來自 60 個國家以上的國外學者 (主為歐洲、北美、東亞與紐澳等區域) 進行國際合作，這些學者也為協助我國鑑定植物檢防疫或新興害蟲，或提供

此類害蟲的重要研究文獻。

農試所館藏昆蟲與蟎類標本數量，成立迄今各類保存型式的標本數量，粗估已超過 200 萬件，以針插乾燥標本為主要保存型式，其他尚有玻片標本、三角紙或瓶裝保存的乾燥標本。在針插乾燥標本所屬之分類群，主為鞘翅目、膜翅目、蜻蛉目、鱗翅目（蝶類及農業有關的蛾類）、半

翅目（含異翅亞目、鞘喙亞目、蠟蟬亞目、蟬亞目及胸喙亞目）及其他各目之農作物害蟲（如直翅目）與益蟲（如螳螂目、脈翅目）標本等；玻片標本則以纓翅目、半翅目（主要為蚜蟲、粉蟲及介殼蟲）、膜翅目寄生性天敵及農作物害蟎（如葉蟎科）為主。

The Importance and Future Prospects of Insect Collections, Insect Identification, and Insect Taxonomy in Agriculture

Hsien-Tzung Shih^{1,*}, Shu-Pei Chen^{1,*}, Chi-Yang Lee, and Chi-Feng Lee^{1,*}

¹ Applied Zoology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

Abstract

Insects are one of the most valuable organisms in the world. They provide innumerable ecological services to humans. Most of the services performed by these creatures go unnoticed. Insufficient understanding of insect species and ecological science during crop production leads to misidentification or loss of control opportunities, allowing some insects to reach pest status and damage our crops and economy. Insect taxonomy plays a valuable role in enhancing the economy of society and agriculture. Correct identification or taxonomy has saved money and improved the economy of society and agriculture. Supporting taxonomic research would have several benefits, including helping to document native species diversity, assessment, and utilization; through accurate identification of beneficial insects, and then obtaining relevant biological and ecological information from historical literature, and accelerating the application of biological control; simultaneously, plant quarantine also makes clear decisions due to rapid and accurate identification. The aim of this article is to provide a balanced view on the importance of insect collections, insect identification, and insect classification to agriculture.

Key words: Insect collection, Insect identification, Insect taxonomy, Agriculture

*Corresponding author.

E-mail: htshih@tari.gov.tw

spchen@tari.gov.tw

chifeng@tari.gov.tw

成立植物病原與食用菌保存中心之必要性

陳金枝¹ 余祥萱¹ 鄭櫻慧¹ 林玫珠¹ 黃巧雯¹
蔡佳欣¹ 林宗俊¹ 呂昀陞¹ 謝廷芳^{1,*}

¹ 行政院農業委員會農業試驗所植物病理組。台灣 台中市。

摘要

植物病原菌保存為植物病原鑑定、分類及演化分析，以及病害防治研究的重要資源；食用菌菌種的保存，可確保菌種多樣性、提供菌種鑑定比對及育種的重要種源。菌種保存乃透過菌種收集與保存，將自然界的微生物如真菌、細菌、病毒及菇類等，經分離純化後再培養，或是保留在原有寄主組織上，以保存技術將其維持在停止生長繁殖或半永久性的休眠狀態下，長時期保持其原有的各種特徵、遺傳性狀及生物活性等，為維持生物資源的重要措施，更是國家生物資源的重要寶藏，可擴展予農業、醫藥學及生物技術等相關領域的研發應用。歷年來台灣在植物病原及其診斷鑑定技術研究、食用菌菌種選育與栽培方面，均有豐厚的研發成果，相關生物資源大多分散保存於各大專院校與政府研究機構。成立「植物病原與食用菌保存中心」有 1. 專業典藏植物病原菌與食用菌種，確保科研材料永續傳承；2. 提升植物防檢疫病原鑑定與病害診斷、監測之執行效能，確保國內農業生態環境永續；3. 因應食用菌產業永續發展之需，確保優勢菌種供應無虞；及 4. 接軌國際微生物專利寄存之需，擴大菌種保存與利用效益等必要性；除了可統整歷年來各學術機構或試驗研究單位所收集保存的相關菌種資源，亦能展現國內在植物病害與食用菌的研發量能，有效利用並永續傳承此等具歷史性保存的生物資源。未來倘順利成立，本保存中心管理完善並符合國際規範，更可達到國際資源交換應用，互利共享的效益。

關鍵詞：植物病原菌、食用菌、保存中心

*論文聯繫人

前言

生物多樣性對於人類健康和福祉、經濟繁榮、食品安全和保障，以及所有人類社會發展與繁榮至關重要，更有利於維持自然環境的生態平衡。1992 年 6 月在里約熱內盧舉行的聯合國環境與發展會議上，由 150 位政府領導人簽署「生物多樣性公約 (Convention on Biological Diversity, CBD)」 (<https://www.un.org/zh/documents/treaty/files/cbd.shtml>; <https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-zh.pdf>)，並於 1993 年底生效，該公約保護生物多樣性、揭示生物多樣性不僅關乎植物、動物和微生物及其生態系統，還關乎人類對糧食安全、藥品、新鮮空氣以及水資源的需求、使我們保有清潔和健康的居住環境。此公約有 3 個主要目標：1) 生物多樣性的保護、2) 生物多樣性組成部分的可持續利用，以及 3) 公平公正地分享利用遺傳資源所產生的利益。該公約明確指出：生物資源是指對人類具有實際、潛在用途或價值的遺傳資源；包含生物體或其部分、生物群體或生態系統中任何其他生物組成部分，也包括任何帶有遺傳訊息能夠自我複製或能在生物系統中被複製的東西，涵括真核與原核生物的多面相 疇 (https://www.bcrc.firdi.org.tw/a_about/)。顯示生物資源包括基因、物種和生態系統三個層次，對人類具有一定的現實和潛在價值，它們是地球上生物多樣性物質面的體現。

因應生物多樣性公約 (CBD) 的三大目標之一~公正地分享利用遺傳資源所產生的利益，CBD 締約國更於 2010 年 10 月 18-29 日所召開的第十屆締約國大會中，通過了「生物多樣性公約遺傳資源取得利益公平分享之名古屋議定書」 (施 2011)。隨著「生物多樣性公約」、「生物多樣性公約遺傳資源取得利益公平分享之名古屋議定書」等國際公約的實施，各國對於生物資源的獲取、監測利用、利益分享等方面，逐步完善國家生物遺傳資源的法律、法規和管理辦法，以及國家間生物遺傳資源獲取與交換機制，而今已得到絕大多數國家的批准，且為具有法律約束力的聲明。

「生物多樣性公約」對於“遺傳資源的原產國”和“提供遺傳資源的國家”均給予界定，並且申明“各國對自己的生物資源擁有主權權利”。最好在遺傳資源原產國能建立與維持異地保護與研究植物、動物和微生物的設施 (<https://ibook.antpedia.com/x/482476.html>)。據此，为了更好地保存和利用自身的生物資源，世界各國紛紛重視生物資源的保護及其衍生利益的分享。世界主要國家與地區在動物資源、植物資源、微生物資源、和標本資源等方面均開展了一系列的運作體系，不同國家間生物資源的移轉受到重視並予規範。目前，全球已有超過 568 個生物資源保存機構 (https://www.bcrc.firdi.org.tw/a_about/)。

綜觀各生物資源保存機構的運作，在菌

種保存技術上需要考量以下關鍵技術及事項：

- 一、微生物培養體的純度檢查，包括外表型態、顯微型態、特定生理生化特性及分子測試等。
- 二、除收集與整合微生物保存外，透過繼代培養獲得保存體時，須測試所有用於保存的菌株之活力和純度，並須定期進行菌種的正確性、純度及活性等覆核程序，以確保每批保存後的菌種活力，以能發揮再利用的有效性 (Espinell-Ingraff *et al.* 2004)。
- 三、運用適合不同菌種的保存技術，以降低生物體內的代謝，減少變異，保持其原有性狀和活力的穩定，直到將來需要使用。
- 四、微生物具有容易變異的特性，因此選用可維持保存時之恆定溫度的設施相當重要，依據特定病原菌或食用菌種類，以低溫、乾燥、隔絕空氣等三個要素進行保存法之設置；常用的方法，如甘油冷凍保存法 (frozen in glycerol broth)、冷凍乾燥保存法 (lyophilization)、液態氮保存法 (liquid nitrogen frozen)、礦油封存法 (mineral oil)、土壤保存法 (soil storage)等 (Humber 1997; Shivas & Beasley 2005; 汪&蘭 2008;王 2011)。
- 五、需具有詳實而正確的標記，細節包括樣品編號、寄主植物名稱、樣品於植物之部位、病徵型態；樣品收集的準確位置

(城鎮、州、省、地區、國家；有全球定位系統 (GPS) 提供精確座標更佳)、採集日期、採集者姓名等。

- 六、要有 2 個以上的保存品備份，能以不同方式保存更為適切。
- 七、符合國際認可，專利認可規範，以能達到國際相互承認之資源交換效益，促進全球化資源的流通應用。

在植物病原及食用菌研究發展上，對特定病原及菌種的保存，及其診斷鑑定資材的保存維護，乃國家生物資源能永續研發與應用的重要基石。本文將闡述生物資源及其對研發試驗的重要性、國內外生物資源保存中心現況、以及農業試驗所目前在植物病原和檢測試劑開發保存與應用效益，及其食用菌研發應用現況等，用以探討國內成立「植物病原與食用菌保存中心」之必要性。

微生物資源的重要性

微生物對人類文化、生活、飲食、科學及醫學研究的發展占重要角色，尤其在生物技術方面，可以讓我們產出許多加值產品，例如發酵產品 (麵包、釀酒)、抗生素、生物殺蟲劑、麥角生物鹼等二次代謝物的生產 (Cánovas & Iborra 2003)，或具有重組 DNA 技術的微生物產品 (Demain 2000; Lee *et al.* 1998)；微生物在大自然生態平衡系統中佔有重要角色，例如分解土壤中的動物屍體和植物遺骸達成環境生態循環，或與各種植物生長形成有益的互惠關係 (Smith 2003)。

在植物病害研究與應用方面：植物病原及其培養體等資源的收集與保存，能讓現在與過去發現的病原菌或病害紀錄串聯起來，成為重要的考證資源 (Kang *et al.* 2006)，尤其在氣候變遷的環境逆境下，除了動植物種有滅絕危機外，病原菌衍生新菌系而造成新興病害對農作物的危害，尤其需要有鑑定比較的病原菌模式標本，提供風險評估之依據。因此，植物病原菌的收集與永久保存，除可提供診斷與鑑定的菌株比對外，也能讓我們掌握病原菌的分類演化趨勢，有助於更透徹地認知病原菌，並實質應用於研擬防治植物病害策略之依據。

植物病原菌，除了危害農作物造成直接損失外，也曾被用來作為攻擊農作物的生物武器 (agricultural bioterrorism) (Peraica *et al.* 1999; Madden & Wheelis 2003; National Research Council 2003)，使國際間更意識到會有蓄意釋放植物病原菌對農業生產造成威脅，進而衝擊民生糧食供應等風險 (Beale *et al.* 2002; Madden & Wheelis 2003)。1999 年，美國植物病理學會 (APS) 曾舉辦“植物病理學在反作物生物恐怖主義和糧食安全中的作用”研討會 (Schaad *et al.* 1999)；在2002 年的APS年會會議中，更揭示了確保作物生物安全的兩種根本策略-預防和準備。預防的重點是提高安全性、保密性和邊境保護；準備的工作，則側重於早期發現、快速診斷和快速恢復；並提議美國農業部建立一個國家植物病害中心，提供病害控制

和服務。APS並於2003年發表“作物生物安全和打擊農業生物恐怖主義”的回應白皮書 (National Research Council. 2003)。因此可知，建立作物病害可快速檢測病原和診斷能力，方能據以提高根除具高危險病原菌的可能性，進而凸顯出對於相關病原菌檢測和診斷的技術資源 (包括文件或病原菌實體保存)，是相當重要的配套措施。

微生物中除了對人體、動物及植物可造成病害的病原菌之外，尚包含可供人或動物食用或對人體或動物有益的益生菌。目前約有數千種的真菌具有由菌絲特化成且肉眼可見的子實體，其中可食用者被泛稱為食用菌，也是俗稱之菇類 (Sakamoto 2018; Sánchez-García *et al.* 2020)。食用菌富含蛋白質、維生素、礦物質及膳食纖維等營養素 (Rathore *et al.* 2017)，除成為餐桌上常見的珍饈外，也是天然的減脂聖品。此外，相關研究指出食用菌含有諸多機能性成分，包含多醣體、三萜類和抗氧化物質等，具有協助調節血糖血脂、增強免疫力和養顏美容等作用 (Ma *et al.* 2021)，有益身體健康，深受全球消費者和保健市場的喜愛。由此可知，食用菌不僅為人類重要的營養來源之一，更和我們健康生活有著密不可分的關係。

國內外生物資源保存中心現況

生物資源包含純系微生物培養體的收集保存，是提供微生物科學研究引用或專利保存材料的重要資源。以真菌菌種為例，於研

究進行期間將其作適當保存，避免菌株變異或退化，維持其活性以確保菌株能再被研發應用，而將其寄存於具規模或公證的菌種中心是相當重要的一環。現今，對於一些已分類命名的典型菌株 (type strain) 或是專利菌株，都需要保存於信譽良好而公開被認可的菌種中心。於 1890 年 Frantisek Král 教授在布拉格德國大學建立了國際間第一個微生物的收藏保存中心，目前全世界已有超過 568 個菌種保存中心 (Çaktü & Turkoglu 2011)。

迄今，全球的菌種保存機構，大多由國家、法人機構或者大學設立 (表 1&表 2)，著名的有美國典型菌種保存中心 (American Type Culture Collection, ATCC)；1970 年 8 月在墨西哥城舉行的第 10 屆國際微生物學代表大會上，成立了世界菌種保藏聯合會 (World Federation for Culture Collections，簡稱 WFCC)，以澳大利亞昆士蘭大學微生物系為世界資料中心，這個中心用電子計算機儲存全世界各菌種保藏機構的有關情報和資料，並於 1972 年出版《世界菌種保藏名錄》(<https://baike.baidu.com/item/菌種保藏/7228416>)。

本文僅簡介美國典型菌種保存中心 (American Type Culture Collection; ATCC)、德國 DSMZ (Leibniz-Institut-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH)、以及台灣最具規模的菌種保存中心-生物資源保存及研究中心

(Bioresource Collection and Research Center; CCRC)，用於了解相關保存中心營運的特點與重要目標。

一、美國典型菌種保存中心 (American Type Culture Collection; ATCC)

在美國，非常重視對生物資源的保護與利用，每年投入大量研究經費支持專案計畫，為美國的生物資源保護作全方位的研發、應用及管理。在微生物資源的保存利用方面，美國有三個主要的信息和保存中心，包括美國真菌遺傳學信息中心 (Fungal Genetics Stock Center, FGSC)、美國典型菌種保存中心 (American Type Culture Collection; ATCC)，以及美國農業部菌種中心 (Agricultural Research Service Culture Collection; NRRL) (<https://zh.wikipedia.org/zh-tw/>)。

ATCC 建立於 1925 年 (<https://www.atcc.org/>)，是世界上最具規模的微生物菌種蒐集、保存及供應機構 (Clark & Geary 1974; Berns *et al.* 1996)。ATCC 保存 4,000 多種人類、動物和植物細胞株，包含有病毒、細菌、真菌、放線菌、酵母菌、藻類和原生動物等，超過 1,500 屬真菌，2000 種原生生物，且絕大部分都是典型品 (type culture)，近年也提供分子基因組學工具和核酸。

ATCC 是一家具有國際認可的全球生物資源中心和標準品供應者，從收購、認證、生產、保存，到發展微生物和細胞系的標準對照

物等，提供生命科學研究所需的關鍵產品。ATCC 於 1981 年起，更成為符合布達佩斯條約之國際生物資源專利的寄存機構之一 (表 2)。

二、德國微生物暨細胞株保存中心 (Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH; DSMZ)

位於德國的 DSMZ，是一家全球服務的生物資源保存品供應商，已涵蓋 80 多個國家的客戶；擁有世界上最多樣化的生物資源保藏 (<https://www.dsmz.de/dsmz/portrait/mission>)；迄至 2021 年，保藏有 75,000 種生物資源，包括微生物 (有 32,000 多種細菌菌株、690 多種古細菌菌株、7,000 種酵母菌和真菌菌株)，840 多種人類和動物細胞培養物、1,500 多種植物病毒、940 多種噬菌體和 250 種質體 (plasmids)。DSMZ 是符合布達佩斯條約認可的生物材料專利和安全保管機構，也是德國唯一的生物資源專利保管機構。

DSMZ 於 2012 年，建置可免費查詢的細菌多樣性數據庫 (The Bacterial Diversity Metadatabase; BacDive) (<https://www.dsmz.de/services/online-tools/bacdive>)，該數據庫包含有關各種原核生物菌株的信息；至 2021 年止，已可搜尋到 82,000 多個菌株的信息(<https://bacdive.dsmz.de/>)。

三、台灣生物資源保存及研究中心 (Bioresource Collection and Research Center; BCRC)

台灣最大且最重要的微生物資源中心，係由經濟部所資助成立的生物資源保存及研究中心 (BCRC)，隸屬於新竹財團法人食品工業發展研究所 (Food Industry Research and Development Institute, FIRDI)。1982 年已開始運作的菌種保存及研究中心 (Culture Collection and Research Center; CCRC)，在 2001 年改名為 BCRC；負責收集並妥善保存我國各類的微生物資源，以提供產業、研究、教育等領域之發展需要，進而提高菌種的可利用性與價值 (謝松源/nmns.edu.tw)。BCRC 已是國際上相當具規模的生物資源保存中心之一，同時也是台灣經濟部智慧財產局認可的國內專利寄存單位。

BCRC 目前收集保存已公開的真菌菌株數量近 6,000 株 (含 1,800 株酵母菌、1,400 株菇類菌種及 2,700 株其他絲狀真菌)，其中有 900 餘株為典型菌株(type strain)，可供進行分類研究之比對用 (謝松源/nmns.edu.tw)；BCRC 近年來已由微生物資源拓展至細胞資源與基因資源之保存，其功能與研發標的包括“(1) 多樣性生物及遺傳資源與資訊之收集、保存及提供；(2) 智慧財產權相關之生物與遺傳資源之寄存與提供；(3) 生物與遺傳資源之複核與鑑定；(4) 生物

與遺傳資源之研發與應用；(5) 業界相關之技術服務或資訊服務” (https://www.bcrc.firdi.org.tw/a_about/)。

成立植物病原與食用菌保存中心之必要性

一、專業典藏植物病原菌與食用菌種，確保科研材料永續傳承

世界菌種保藏聯合會 (WFCC) (<http://www.wfcc.info>) (Ma & Sugawara 2011)在微生物和細胞培養物的收集、鑑定、維護和分發方面發揮著重要的國際交換與分享機制。其宗旨是促進和支持館藏建設與相關服務，提供館藏與用戶之間的聯絡和信息網絡，確保館藏的長期生存。WFCC 開發了一個關於全球文化資源的國際數據庫。該數據庫由日本國立遺傳學研究所維護，紀錄了來自 62 個國家的近 500 個培養物收藏。這些紀錄包含有關館藏的組織、管理、服務和科學興趣的數據。該數據庫是所有微生物活動的重要信息資源，也是 WFCC 成員之間數據共享活動的焦點。以目前世界各國已建置的微生物菌種保存中心，在館藏中也會收納植物病原微生物；但台灣目前除了位於新竹財團法人食品工業發展研究所內的生物資源保存及研究中心 (BCRC) 提供微生物菌種的寄存外，尚未有專屬植物病原菌與食用菌的保存與應用中心。

國內目前對植物病原菌或食用菌的收集與保存，常見於特定個人或學術研究機關對

特定寄主的病原菌所做的培養與保存，通常是個人研究成果的收集保存品，並不一定會有完備的保存設施來進行永久有效的保存；即便是將備份品寄存在公認的保存中心，但也可能會隨原創保存者的退休或歸屬權的承接者沒有適當的轉換，而導致該保存品發生漏失的風險 (Coffey 2003)。

在台灣，「台灣植物病害名彙第五版」紀錄了從日據時代到 2018 年 12 月為止，已紀錄的植物病原種類，目前這些病原菌均分散保存在原發現者所在機關或學校，而年代久遠者，也不一定有完整的實體保存與紀錄；而食用菌在國內相關研究人員進行品種收集與新品種育成，具有一定量的典藏。因此，國內若能有特定機構，能將歷年來以及未來發表在台灣植物病原菌、食用菌進行系統性且規格化的保存，收納於特定專責機構統籌管理，將會是台灣植物病理與食用菌研究發展的重要資產。

農業試驗所在擘劃成立「植物病原與食用菌保存中心」的目標上，將統辦植物病原及食用菌菌株之保存、鑑定、資料庫建立、資料交換、鑑定技術開發及防檢疫病原菌風險評估。執行的重點項目將聚焦於：1. 植物病原(真菌、細菌、病毒、線蟲)保存；2. 食用菌菌種保存；3. 農用微生物保存 (具功能性之有益微生物菌株)；4. 植物病原檢測試劑保存 (含抗血清及核酸檢測試劑)；5. 病原鑑定技術開發與建立；6. 資料庫建立、交換及防檢疫風險評估；及 7. 媒合國內植物病原鑑定相

關資源與技術等。

朝此目標積極規劃與實際運作之下，假以時日，將能逐漸擴展營運成符合國際認可的植物病原與食用菌菌株保藏中心，在與世界接軌與交換研究材料的效益上，將使台灣的植物病理研究發展更具國際權威性，並實質對國際社會發揮專業的貢獻。此外，立基於國內植物病理人員的專業術養，執行本保存中心的優勢在於：

1. 具備主動蒐集植物病原，確保菌株病原性之專職技能：具有保存植物病原菌株、農用微生物菌株及維持其活性之保存方法；同時主動蒐集植物病原菌株，可涵蓋多數病原種類與菌株。
2. 具備主動蒐集食用菌菌株，確保菌株活力之專職技能：具備主動蒐集市售和新選育出的食藥用菌類，並針對所蒐集之食藥用菌類進行菌種活力評估，或出菇性狀檢核。
3. 可計畫性保存歷年植物病原菌株供學術研究：提供植物病原的病原性變化、親緣性分析、流行病學研究及抗藥性變化等研究資源，以因應氣候變遷之作物病害防治策略。
4. 保存國內最完備植物病原抗血清，可立即回應防檢疫監測需求：具有植物病原、植物病毒抗血清及正對照品等資源，可立即回應防檢局之防檢疫病原鑑定及風險評估所需。
5. 具備專業菌種分類和鑑定技術：由植物病理專家執掌相關菌種保存與品質維護及

專業之病原鑑定技術，樹立植物病原和食用菌類研究的國際形象。

6. 樹立菌類資源保存與分享機制：建立國內植物病原鑑定技術相關資源之運籌中心，鏈結學術及試驗研究機構與農政單位，充分發揮保存體之運用價值。
7. 收存新發表之病原菌株，接軌國際學術研究：未來可提供防檢疫規範新發表微生物(含病原菌)之寄存場所。

二、提升植物防檢疫病原鑑定與病害診斷、監測之執行效能，確保國內農業生態環境永續

1995 年世界貿易組織 (The World Trade Organization; WTO) 的成立，被譽為開啟了貿易自由化的新紀元，隨著 WTO 的成立及其適用於農產品貿易的規則，植物健康已成為主要的貿易政策問題。由於世貿組織《實施衛生和植物檢疫措施協定》(The Application of Sanitary and Phytosanitary Measures; SPS 協定) 所規定的義務而擴大了農產品貿易，但許多發展中國家卻未能擴大，歸因於節肢動物害蟲收集和植物病害標本館的不足，而限制了許多國家植物保護組織無法進行可靠的有害生物風險分析，缺乏描述其農業和林業健康狀況的能力。根據 SPS 協定第 9 條，已開發國家同意向發展中國家成員提供技術援助，以建構與衛生和植物檢疫措施有關的能力。因此，澳大利亞國際開發署(AusAID)資助的區域和雙邊援助計畫，以多種方式履行其義務，更於 2005 年出

版 " Management of Plant Pathogen Collections (ISBN 0-9751686-6-5) " 技術專書，針對東南亞國家的需求，強調 5 個關鍵領域培養科學家的能力，包括植物害蟲監測、病害診斷、病害標本保存、管理與收集管理、數據管理；書中更闡述如何管理植物標本館和菌種保存的技巧等。

生物資源館藏的標本和其他材料，可在協助市場准入和排除潛在有害外來物種的措施上，提供有力的證明工具。因此，農業試驗所在籌劃成立「植物病原與食用菌保存中心」的目標，透過植物病理專業人員對相關植物病原資源的收集與保存，除了提升對國內外有害生物診斷鑑定或比對用的充足資源庫外，可即時支援在國際貿易活動之防檢疫有害生物監測攔截使用的相關資源或技術；而且在進出口國際貿易檢疫，可提供具國際防檢疫認可的重要佐證資源，助益於檢疫談判協商的順暢度。

三、因應食用菌產業永續發展之需，確保優勢菌種供應無虞

台灣市面上常見且已商業化栽培的食用菌有香菇、杏鮑菇、金針菇、鴻喜菇、秀珍菇、木耳、洋菇、草菇等，而應用於保健市場的食用菌則包含靈芝、牛樟芝和北蟲草等，目前產值已達 130 億元新台幣，占整體蔬菜產值 18%，為農業生產之要角 (石等人，2019)。食用菌之栽培菌種大部分以菌絲更新進行無性繁殖、生產及保存，且業

者之生產流程多以固體菌種之模式生產，然而菌種在生產過程中容易因過度繼代培養，導致菌種種性與活力喪失，進而出現菌種弱化的問題，造成產量下降與品質不佳等現象，使得菇類產業近年來之產量與產值出現明顯下滑。此外，由於部分食用菌無法以低溫進行保存，加上業界缺乏其他替代之保存技術，使得優質菌種無法長期保存，造成其優良園藝性狀喪失，不僅導致產量與產值之損失，更無法用於後續育種工作之使用。近年來氣候變遷所帶來的極端氣候問題，使目前慣用的食用菌品種無法適應現今的環境條件和改變。因此，業者亟需新的優良菌種供應，但在品種選育之前，由於缺乏足夠之親本來源，使得食用菌菌種的蒐集與保存儼然成為產業急需解決的問題。

國內目前僅有農業試驗所植物病理組下設置菇類研究室，專職從事食用菌類相關研究工作，同時也負責全國菇類產業之輔導與推廣，迄今已蒐集超過百種之優良菌種，包括香菇、杏鮑菇、洋菇、木耳、秀珍菇、鴻喜菇、美白菇等常見的食用菇類，以及靈芝、桑黃、牛樟芝和北蟲草等藥用菇類。然礙於現有研究人力，且既有食用菌菌株保存單位亦缺乏針對所蒐集之食藥用菌類進行菌種活力評估或栽培出菇後之園藝性狀檢核等配套措施，因此優良菌種的長期保存是否能直接應用於業者直接栽培實屬困難。因此，成立「植物病原與食用菌保存中心」，統整相關資源，透過主動蒐集市售和新選育

出的食藥用菌類，同時引進新穎的菌種保存技術，相信於未來不僅能延續研發成果，更能協助產業確保其菌種穩定性，讓國內食用菌產業發展更具競爭力。

四、 接軌國際微生物專利寄存之需，擴大菌種保存與利用效益

以菌種專利申請為例，微生物菌種專利除了要能符合專利三要件（實用性、新穎性、進步性）外，還需要「能夠據以實施」的要件，亦即必須要於申請日（優先權日）當天或之前將生物材料送至該國主管機關認可或指定的專利寄存單位(周 2020)。

目前，台灣經濟部智慧財產局認可的專利寄存單位包括 1) 台灣，新竹食品工業研究所的生物資源及保存中心 (<https://www.bcrc.firdi.org.tw/>)；2) 日本，獨立行政法人製品評價技術基盤機構特許生物寄存中心 (NITE-IPOD)、獨立行政法人製品評價技術基盤機構特許微生物寄託中心 (NPMD)；3) 英國，英國智慧局所指定之國內寄存機構；4) 韓國，韓國菌種保藏中心 (KCTC)、韓國微生物保藏中心 (KCCM)、韓國細胞株研究基金會 (KCLRF) 及韓國農業遺傳資源保藏中心 (KACC)(周 2020)。因此，於台灣提出專利申請案時，生物材料須送至上列寄存單位；而若申請國際專利，為確保國際優先權被認可，應以寄存於與台灣有簽訂寄存相互認可協議且為布達佩斯條約會員國的國家為優先考量。

國際承認用於專利程序目的之微生物保存《布達佩斯條約 (BUDAPEST TREATY)》，於 1977 年 4 月 28 日布達佩斯外交會議舉行，並於 1980 年 8 月 19 日生效。根據《布達佩斯條約》的規定，國際保存單位可以是一個政府機構，也可以是一個私人機構，但必須符合規範有國際保存單位建立的條件 (<https://www.wipo.int/treaties/en/registration/budapest/>)。由於生物材料的專利寄存具有國際優先權主張的重要性，及至 2020 年符合布達佩斯條約之國際生物資源專利寄存單位共有美國 ATCC 等 48 個 (表 2)。

農業試驗所植物病原及病毒檢測試劑開發保存與應用現況

植物病害研究，除菌種保存外，對相關病原菌的診斷鑑定技術資源的保存，同等重要。農業試驗所經多年實務上的植物病害診斷，參考國際文獻已建立多種重要病原細菌分離與鑑定方式，並保存常見重要的細菌如 *Pectobacterium*、*Dickeya*、*Pseudomonas*、*Acidovorax*、*Ralstonia*、*Burkholderia*、*Agrobacterium*、*Xanthomonas* 等屬，由於細菌分類地位不斷更動，持續收集並保存國內植物病原細菌種類，需依照時代變遷進行更深入的鑑定，方能與國際疫情接軌，並有助於了解國內疫情演變。

而植物病毒具有無法人工培養、無農藥可防治、罹病作物可能無症狀表現等特性與

風險，因此透過早期篩檢技術之把關，應用於健康種苗品質把關或阻斷病毒擴大危害，才能實質有助於減少作物生產之損失。台灣大學的松本巍教授早在 1929 年就建立抗血清診斷植物病毒技術，為快速診斷病毒病害之利器，各大學及研究單位植物病毒研究人員都針對重要病毒製備多元抗血清。

以農業試驗所的植物病毒研發成果為例：病毒為作物生產過程影響生育品質的重要病原之一，且為國際農產貿易在邊境檢查之重要檢疫對象。農業試驗所歷年來積極開發各種作物病毒檢測用抗血清或核酸檢測試劑，已保存至少 100 種作物病毒檢測試劑與正對照檢體，可檢測之對象涵蓋禾本科、十字花科、茄科、蔥科、瓜類、豆類、山藥、木瓜、百香果、紅龍果、草莓、香莢蘭及各種花卉(如蝴蝶蘭、百合、海芋、孤挺花、洋桔梗)等國內外重要作物，目前具備有全國最完整的植物病毒血清庫，為我國重要之作物病毒檢測試劑庫與技術研發基地。

目前已研發之檢測技術不但已實際應用於健康種苗驗證制度，負責驗證標的之病毒檢定機關(如馬鈴薯、甘藷、豇豆、百香果、草莓及採筍竹)，更成為行政院農業委員會動植物防疫檢疫局把關進出口種子(苗)邊境檢疫之利器(如茄科、瓜類、蘭花、百合及球根花卉等)，把關農產資材的健康與安全，降低危害農業生態的風險。以往研究顯示，國內自製的病毒抗血清品質有優於國外購入品(陳等 2017)，更有適地適用的效益，可提升對

國內本土病毒分離株的檢出準確度。各研究單位及大專院校都有製備抗血清，這些不同單位的抗血清需要建立一個資訊平台，整合國內研究單位與大專院校之血清資料，建立血清互聯平台，使抗血清在使用上達到互通有無，增強國內研發能力之效果。因此，在規劃中的「植物病原與食用菌保存中心」，將同時建置有作物病毒檢測試劑保存庫，具體可以達到以下效益：

一、整合研發量能，集中管理國內植物病毒抗血清資源

規劃完善的植物病毒血清庫，可以長久保存此等抗血清及其正對照抗原，使相關研究能夠持續達到傳承之目的。此外，可建立作物病毒研究資源整合窗口，達到跨機關橫向聯繫，使研究及防檢疫人員透過即時查詢病毒抗血清或相關檢測試劑資訊，找到合作標的，提升研究能量或加速防檢疫效率。

二、促成植物病毒抗血清保存資源的加值應用

未來建構完成的保存中心，將可擔任媒合生物科技公司與擁有病毒抗血清之研究人員進行技術移轉，研發快速檢測產品如製作試紙條或免疫晶片，除了因應國內及邊境防檢疫所需，也可行銷海外，協助產品商品化、國際化流通。此外，利用病毒血清庫之豐富庫存，針對檢疫對象病毒陸續建立國家標準化檢定流程，進一步將診斷試劑

加以規格化，以提供給國內檢防疫單位應用。而操作簡易的快速檢測試紙條可在無實驗室設備下，提供快速穩定的檢測方法；由國內自行生產的快速檢測試紙條可以優於國外的價格販售，扶植國內產業又能達到試紙條生產者與種苗業者雙贏的效果。

三、快速回應產業面臨之病害診斷鑑定問題之解決方案

植物醫師為國家積極推動的制度，藉由專業的植物醫師面對第一線生產者，提供即時的植物健康診療，協助降低生產成本並減少農藥殘留，達到政府食安五環及化學農藥10年減半政策。植物病毒診斷用血清庫，將可提供植物醫師直接的查詢管道，並可媒合取得需要的資材，以達到正確診斷病毒病害，提供有效防治建議的目標。

結語

收集大量的植物病原培養物或其診斷試劑進行保存，是一項長期且持續的工作，並需有規格化保存技術與完善管理的配套設備與措施，以利永續保存並發揮保存品的最高應用價值，進而樹立專業保存中心的形象。立足於農業試驗所專業之植物病原診斷鑑定與保存技術，以及食用菌菌種保存與應用的基礎上，規劃成立的「植物病原與食用菌保存中心」已跨出穩健的第一步，將成為未來我國生物資源永續運用，促進國家植物保護與食用菌產業發展的重要關鍵資源庫。

在植物病原與食用菌菌種的保存管理上，需要考量的關鍵策略如下：(一) 持續主動而全面性地進行相關微生物資源的收集與保存；(二) 建立以分子遺傳訊息的保存資源，除可輔助傳統分類學的鑑定外，能加值應用分子訊息，亦能以分子訊息之保存克服菌種無法長期保存的瓶頸；(三) 整合分散在各學術機構與農業試驗研究機關的微生物菌種、細胞資源及診斷技術，並完成資源共享機制，以提升生物資源與技術的保存價值；(四) 建立國家級菌種保存中心，朝向符合生物多樣性公約精神與達成國際認可的目標努力，讓保存品能與國際接軌，發揮互利共享的效益。

引用文獻

- 王伯徽。2011。菇類菌種保存技術。菇類產業發展研討會專刊 p.129–137。行政院農業委員會農業試驗所出版(ISBN：9789860297300)。
- 生物多樣性公約。聯合國公約與宣言檢索系統。
<https://www.un.org/zh/documents/treaty/files/cbd.shtml>。
- 石信德、呂昀陞、邱相文、周榮源、呂椿棠、徐武煥、陳美杏、李瑋崧、黃榮揚。2019。菇類智慧化生產之現況與展望。菇類智慧化生產與農場經營管理研討會專刊：29–34。

汪進仕、蘭成忠。2008。農業植物病害研究中可培養性病原菌的常用保存方法。現代農業科技 (<https://www.zhiwutong.com/yuanlin/2008-02/26472.htm>)

呂斯文。2002。美國政府對農業恐怖主義之因應對策。農政與農情 122 (<https://www.coa.gov.tw/ws.php?id=4206>)。

周書帆。2020。生物材料的專利寄存對於國際優先權主張的重要性。(http://www.velement.com.tw/news_detail/15)

施文真。2011。淺談「生物多樣性公約遺傳資源取得利益公平分享之名古屋議定書」。農政與農情 228 (<https://www.coa.gov.tw/ws.php?id=23734>)。

陳方、丁陳君、鄭穎、宋琪、吳曉燕。2020。生物資源領域國際發展態勢研究及啟示。世界科技研究與發展 (<https://ibook.antpedia.com/x/482476.html>)。

陳金枝、江芬蘭。2017。 *Cymbidium ringspot virus* 核酸及血清檢測法之建立及其應用。台灣農業研究 66(3): 202–218。

謝松源。生物資源中心及真菌菌種保存。數位典藏學術研究資源網-自然與人文數位博物館 (nmns.edu.tw)。

Beale, J., B. Brown, M. Cline, J. Cook, A.

Desjardin, J. Fletcher, J. Leach, A. Levsque, L. Madden, and N. Schaad, 2002. Crop biosecurity and countering agricultural bioterrorism: Responses of The American Phytopathological Society. APSnet Feature Story. Published online by The American Phytopathological Society, St. Paul, MN. <http://www.apsnet.org/online/feature/bioterrorism/>

Berns, K. I., E. C. Bond, and F. J. Manning. (eds.). 1996. The American Type Culture Collection. Resource Sharing in Biomedical Research. Washington, D.C.: National Academies Press (US).

Çaktü, K., and E. A. Turkoglu. 2011. Microbial culture collections: The essential resources for life. Gazi University J. Sci, 24(2): 175–180.

Cánovas, M., and J. L. Iborra. 2003. Culture collections and biochemistry. Int. Microbiol. 6: 105–112.

Clark, W. A., and D. H. Geary. 1974. The Story of the American Type Culture Collection – Its History and Development (1899-1973). Advances in Applied Microbiology 17: 295–309.

Coffey, M. D. 2003. The World Phytophthora Collection at UCR

- facing destruction in less than a month. *Inoculum* 54: 13–14
- Demain, A. L.** 2000. Small bugs, big business: The economic power of microbe. *Biotechnol. Adv.* 18: 499–514.
- Espinel-Ingroff, A., D. Montero, and E. Martin-Mazuelos.** 2004. Long-term preservation of fungal isolates in commercially prepared cryogenic microbank vials. *J. Clin. Microbiol.* 42(3): 1257–1259. doi:10.1128/JCM.42.3.1257-1259.
- Humber, R. A. 1997. Fungi: Preservation of cultures. *in: Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. 2nd edition. Lacey, L. A. ed. Elsevier Ltd. London, UK.
- Kang, S., J. E. Blair, D. M. Geiser, C.-H. Khang, S.-Y. Park, M. Gahegan, K. O’ Donnell, D. G. Luster, S. H. Kim, K. L. Ivors, Y.-H. Lee, Y.-W. Lee, N. J. Grünwald, F. M. Martin, M. D. Coffey, N. Veeraraghavan, and I. Makalowska.** 2006. Plant pathogen culture collections: It takes a village to preserve these resources vital to the advancement of agricultural security and plant pathology. *Phytopathology* 96: 920–925.
- Lee, J. K., Y. O. Kim, K. Sunitha, and T. K. Oh.** 1998. Expression of thermostable alkaline protease gene from *Thermoactinomyces* sp. E79 in *E. coli* and heat activation of the gene product. *Biotechnol. Lett.* 20: 837–840.
- Ma, G., H. Du, Q. Hu, W. Yang, F. Pei, and H. Xiao.** 2021. Health benefits of edible mushroom polysaccharides and associated gut microbiota regulation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*: 1–18.
- Ma, J. and H. Sugawara.** 2011. Activity of World Federation for Culture Collection (WFCC) World Data Centre for Microorganisms (WDCM). *Microbiol. Cult. Coll.* 27(2): 79–81.
- Madden, L. V. and M. Wheelis.** 2003. The threat of plant pathogens as weapons against U.S. crops. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41: 155–176.
- National Research Council.** 2003. Countering Agricultural Bioterrorism. The National Academies Press, Washington, D.C.
- Peraica M, B. Tadic, A. Lucic, and M. Pavlovic.** 1999. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull. WHO* 77: 759
- Rathore, H., S. Prasad, and S. Sharma.**

2017. Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. *Pharma Nutrition* 5(2): 35–46.
- Sakamoto, Y.** 2018. Influences of environmental factors on fruiting body induction, development and maturation in mushroom-forming fungi. *Fungal Biol. Rev.* 32(4): 236–248.
- Sánchez-García, M., M. Ryberg, F. K. Khan, T. Varga, L. G. Nagy, and D. S. Hibbett.** 2020. Fruiting body form, not nutritional mode, is the major driver of diversification in mushroom-forming fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 117(51): 32528–32534.
- Schaad, N. W., J. J. Shaw, A. Vidaver, J. Leach, and B. J. Erlick.** 1999. Crop biosecurity. APSnet 15 Sept.–31 Oct. www.apsnet.org/online/feature/Biosecurity/Top.html
- Shivas R. and D. Beasley.** 2005. Management of plant pathogen collections. pp. 82. Office of the Chief Plant Protection Officer Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. Canberra, Australia
- Smith, D.** 2003. Culture collections over the world. *Int. Microbiol.* 6: 95–100.

表 1、國際間一般菌種保存中心機構概況

Table 1. Several general microbial culture collections in the world

保存中心名稱 Name of Collection	縮寫 Acronym	所在國家 Country
財團法人食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心 Bioresource Collection and Research Center http://www.bcrc.firdi.org.tw/wwwbcrc/main.jsp	BCRC	Taiwan, ROC
菌根真菌蒐藏中心 The International Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (https://invam.ku.edu/)	INVAM	USA
美國浮游生物蒐藏中心 Provasoli - Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton http://ccmp.bigelow.org/	CCMP	USA
耶魯大學大腸桿菌菌株庫 <i>E. coli</i> Genetic Stock Center, http://cgsc.biology.yale.edu/	CGSC	USA
英國國家菌種中心 The United Kingdom National Culture Collection http://www.ukncc.co.uk/	UKNCC	UK
英國國家真菌病原收藏中心 National Collection of Pathogenic Fungi https://www.ukbrnc.org/who-we-are/national-collection-of-pathogenic-fungi-ncpf	NCPF	UK
微生物孢子收藏中心 Sporometrics Culture Collection of Microorganisms http://www.sporometrics.com	SCCM	Canada
澳洲 New South Wales 大學微生物蒐藏中心 University of New South Wales Culture Collection http://www.babs.unsw.edu.au/about/centres/micro_culture.html	UNSWCC	Australia

日本 NITE 生物資源中心 NITE Biological Resource Center https://www.nite.go.jp/en/nbrc/index.html	NBRC	Japan
日本微生物菌種中心 Japan Collection of Microorganisms http://www.jcm.riken.go.jp/	JCM	Japan
Refik Saydam 國家典型培養體收藏中心 Refik Saydam National Type Culture Collection https://www.eccosite.org/portfolio-item/rskk/	RSKK	Turkey
荷蘭細菌菌種中心 The Netherlands Culture Collection of Bacteria http://www.cbs.knaw.nl/nccb/	NCCB	Netherlands
西班牙微生物典型菌種中心 Spanish Type Culture Collection of Microorganisms https://www.uv.es/uvweb/spanish-type-culture-collection/en/spanish-type-culture-collection-1285872233521.html	CECT	Spanish
瑞典大學細菌蒐藏 Culture Collection University of Goteborg. https://www.ccug.se/	CCUG	Sweden
法國 Pasteur 研究所的菌種中心 Collection de l'Institut Pasteur http://www.pasteur.fr/	CIP	France
Helsinki 大學微生物菌種中心 HAMBI Microbial Culture Collection, University of Helsinki https://researchportal.helsinki.fi/en/equipments/hambi-microbial-culture-collection-university-of-helsinki	HAMBI	Finland

資料來源:

1. <https://microbiology.scu.edu.tw/MIB/wong/courses/inform/site06.htm>.
2. Çaktü, K., and E. A. Turkoglu. 2011. Microbial culture collections: The essential resources for life. Gazi University J. Sci, 24(2):175-180.

表 2、2020 年 6 月為止符合布達佩斯條約第七條規定的國際生物資源保管機構

Table 2. International depositary authorities under article 7 of the Budapest treaty

保存中心名稱 Name of Collection	縮寫 Acronym	所在國家 Country	符合布達佩斯 條約日期
美國農業部菌種中心 Agricultural Research Service Culture Collection Microbial Genomics and Bioprocessing Research Unit National Center for Agricultural Utilization Research (http://nrnl.ncaur.usda.gov/)	ARS - NRRL	USA	Jan. 31, 1981
美國典型菌種保存中心 American Type Culture Collection http://www.atcc.org/	ATCC	USA	Jan. 31, 1981
Provasoli-Guillard 國家海洋藻類和微生物中 心 Provasoli-Guillard National Center for Marine Algae and Microbiota (https://ncma.bigelow.org)	NCMA	USA	Apr. 26, 2013
Leibniz 研究所-德國微生物與細胞培養物中 心 Leibniz-Institut - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) https://www.dsmz.de/dsmz/	DSMZ	Germany	Oct. 1, 1981
國際農業和生物科學中心 Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI) Culture Collection, UK Centre (IMI) https://www.ukbrcn.org/	CABI- IMI	UK	Mar. 31, 1983

藻類和原生動物培養體收集中心 Culture Collection of Algae and Protozoa (https://www.ccap.ac.uk)	CCAP	UK	Sept. 30, 1982
国家典型菌種保存中心 National Collection of Type Cultures https://www.ukbrcn.org/	NCTC	UK	Aug. 31, 1982
國家工業食品和海洋細菌收藏中心 National Collections of Industrial, Food and Marine Bacteria (https://www.ncimb.com)	NCIMB	UK	Mar. 31, 1982
英國國家生物製品檢定所 National Institute for Biological Standards and Control https://www.nibsc.org	NIBSC	UK	Dec. 16, 2004
英國酵母菌菌種中心 National Collection of Yeast Cultures http://www.ifrn.bbsrc.ac.uk/ncyc/	NCYC	UK	Jan. 31, 1982
歐洲細胞培養體收藏 European Collection of Cell Cultures https://www.culturecollections.org.uk/	ECACC	UK	Sept. 30, 1984
瑞士股份公司-菌種培養收藏 Culture Collection of Switzerland AG (https://grow-waedenswil.ch/ccos)	CCOS	Switzerland	Jan. 16, 2017
國家微生物菌種收藏 Collection nationale de cultures de micro- organismes (https://research.pasteur.fr/)	CNCM	France	Aug. 31, 1984
義大利工業酵母收藏 Collection of Industrial Yeasts (www.dbvpg.unipg.it/en)	DBVPG	Italy	Jan. 31, 1997

倫巴第和艾米利亞羅馬涅實驗動物預防研究所 Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell' Emilia Romagna "Bruno Ubertini" (https://www.izsler.it)	IZSLER	Italy	Feb. 9, 2015
聖瑪蒂諾綜合醫院-科學住院和護理研究所 Ospedale Policlinico San Martino-Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico https://www.ospedalesanmartino.it/	IRCCS	Italy	Feb. 29, 1996
斯洛伐克酵母菌培養收集 Culture Collection of Yeasts (CCY) http://www.ccy.sk/	CCY	Slovakia	Aug. 31, 1992
捷克微生物收藏中心 Czech Collection of Microorganisms http://www.sci.muni.cz/ccm	CCM	Czech Republic	Aug. 31, 1992
比利時微生物菌種中心/LMG 細菌收集 Belgian Coordinated Collections of Microorganisms/LMG-Bacteria Collection http://bccm.belspo.be/index.php	BCCMTM/ LMG	Belgium	Mar. 1, 1992
國家技術與評估研究所-專利微生物保存 National Institute of Technology and Evaluation, Patent Microorganisms Depositary http://www.nite.go.jp/en/nbrc/patent/npm/index.html	NPMD	Japan	Apr. 1, 2004
韓國農業菌種收藏中心 Korean Agricultural Culture Collection http://www.genebank.rda.go.kr	KACC	Korea	May 1, 2015

韓國細胞系研究基金會 Korean Cell Line Research Foundation http://cellbank.snu.ac.kr	KCLRF	Korea	Aug. 31, 1993
韓國典型菌種收藏 Korean Collection for Type Cultures http://kctc.kribb.re.kr/	KCTC	Korea	June 30, 1990
韓國微生物菌種中心 Korean Culture Center of Microorganisms http://www.kccm.or.kr/	KCCM	Korea	June 30, 1990
全俄工業微生物收藏 All-Russian Collection of Industrial Microorganism http://www.genetika.ru/vkpm	VKPM	Russia	Aug. 31, 1987
俄羅斯微生物收藏 Russian Collection of Microorganisms http://www.vkm.ru	VKM	Russia	Aug. 31, 1987
微生物培養物收藏 Microbial Culture Collection http://www.nccs.res.in	MCC	India	Apr. 9, 2011
全國重要農業微生物菌種收集 National Agriculturally Important Microbial Culture Collection https://nbaim.icar.gov.in	NAIMCC	India	Jul. 28, 2020
微生物典型培養物保藏中心和基因庫 Microbial Type Culture Collection and Gene Bank https://mtccindia.res.in/	MTCC	India	Oct. 4, 2002

荷蘭皇家藝術與科學學院-真菌菌種保存中心 Westerdijk Fungal Biodiversity Institute- Culture Collection of Fungi and Yeasts, Netherlands http://www.cbs.knaw.nl/	CBS /KNAW	Netherlands	Oct. 1, 1981
Lady Mary Fairfax CellBank Australia http://www.cellbankaustralia.com	CBA	Australia	Feb. 22, 2010
澳大利亞國家測量研究院 National Measurement Institute https://shop.measurement.gov.au/	NMI	Australia	Sep. 30, 1988
芬蘭技術研究中心-VTT 培養物保藏 VTT Culture Collection (Technical Research Centre of Finland) http://culturecollection.vtt.fi	VTTCC	Finland	Aug. 25, 2010
拉脫維亞微生物菌種中心 Microbial Strain Collection of Latvia https://www.gbif.org/grscicoll/institution	MSCL	Latvia	May 31, 1997
摩洛哥微生物協調收藏中心 Moroccan Coordinated Collections of Microorganisms http://www.cnrst.ma	CCMM	Morocco	Feb. 20, 2018
匈牙利國家農業和工業微生物菌種收藏中心 National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms http://ncaim.hu	NCAIM	Hungary	Jun. 1, 1986
保加利亞國家工業微生物和細胞培養銀行 National Bank for Industrial Microorganisms and Cell Cultures http://www.nbimcc.org	NBIMCC	Bulgaria	Oct. 31, 1987

日本國際專利生物保存機構 International Patent Organism Depository, National Institute of Technology and Evaluation http://www.nite.go.jp/en/nbrc/patent/pod/index.html	IPOD/NITE	Japan	May 1, 1981
西班牙藻類銀行 Banco Español de Algas https://marinebiotechnology.org/es	BEA	Spain	Oct. 28, 2005
西班牙典型菌種中心 Colección Española de Cultivos Tipo (Spanish Type Culture Collection) http://www.cect.org	CECT	Spain	May 31, 1992
波蘭農業和食品生物技術研究所(IAFB)-工業 微生物收藏中心 IAFB Collection of Industrial Microorganisms http://www.ibprs.pl	IAFB-CIM	Poland	Dec. 31, 2000
波蘭微生物收藏中心 Polish Collection of Microorganisms https://www.pcm.org.pl	PCM	Poland	Dec. 31, 2000
加拿大國際保存單位 International Depository Authority of Canada https://www.canada.ca/en/	IDAC	Canada	Nov. 30, 1998
中國典型菌種保藏中心 China Center for Type Culture Collection http://cctcc.whu.edu.cn	CCTCC	China	Jul. 1, 1995
中國微生物菌種收藏中心 China General Microbiological Culture Collection Center http://www.cgmcc.net	CGMCC	China	Jul. 1, 1995

智利微生物遺傳資源收藏中心 Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos http://www.cchrgm.cl	CChRGM	Chile	Mar. 26, 2012
廣東微生物菌種收藏中心 Guangdong Microbial Culture Collection Center http://www.gimcc.net	GDMCC	China	Jan. 1, 2016
墨西哥國家微生物研究中心 Colección de Microorganismos del Centro Nacional de Recursos Genéticos https://cmcnrg.inifap.gob.mx/acerca.html	CM-CNRG	Mexico	Aug. 25, 2015

資料來源:

<https://www.wipo.int/export/sites/www/treaties/en/registration/budapest/pdf/idalist.pdf>

The Necessary of Establishing Preservation Center for Plant Pathogens and Edible Mushrooms

Chin-Chih Chen¹, Shiang-Shiuan Yu¹, Ying-Huey Cheng¹, Mei-Ju Lin¹,
Chiao-Wen Huang¹, Chia-Hsin Tsai¹, Tsung-Chun Lin¹,
Yun-Sheng Lu¹, and Ting-Fang Hsieh^{1,*}

¹Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

ABSTRACT

Preservation of plant pathogens is an important resource for pathogen identification, classification and evolution analysis, and for disease control researches; the same, preservation of edible mushroom strains is an important resource for keeping diversity, strain identification and breeding. Through the collection and preservation of bio-strains, the natural microorganisms such as fungi, bacteria, viruses and mushrooms were isolated and propagated with the purified culture, or directly maintained on the original host tissues, and used preservation technology to terminate their growth and reproduction or to keep them under the semi-permanently dormant state. Long-term preservation can maintain the original various characteristics, genetic traits, and biological activities of those bio-resources for a long time. This is a critical measure to maintain biological resources for subsequent utilization, and is an important treasure of national biological resources. These resources can be extended to the developments and applications of agriculture, pharmaceutical, biotechnology and other related research fields. Over the years, Taiwan's plant pathologist has got several achievements in the researches of plant pathogens, disease diagnosis and pathogen identification technology, as well as the development and cultivation of edible fungi. Most of the relevant biological resources are scattered and stored in separate research institutions. For future development, the establishment of a national center for collection and preservation of plant pathogens and edible fungi, will not only integrate the relevant resources collected and preserved by various academic institutions or experimental research institutes over the years, but also be able to demonstrate the domestic potential on researches of plant diseases and edible fungi. These historically preserved bio-resources can be effectively utilized, and can be sustainably inherited. In

*Corresponding author.

E-mail: tfhsieh@tari.gov.tw

the future, the preservation center we built will be organized as a well-managed and internationally recognized one, and extended the benefits of international resource exchange and application, mutual benefit and sharing.

Key words: Plant pathogens; Edible mushroom; Preservation center

網絡分類學-多面向議題的通用鑰匙

楊正澤^{1,*}

中興大學昆蟲學系退休教授

摘要

網絡分類學不是研究網絡的科學，是利用生物圈網絡分支領域研究生物分類學，生物學等基礎科學與生物多樣性議題利用網絡研究與應用科學及於社會、經濟與人文等研究領域之鏈結以及多面向成果展現的整合平台，在網絡發達的今天，可以是解決分類學日漸式微，人力短缺，資料整合與國際合作等多面向問題的解決之道，一旦開始建立網絡節點，更可以是連結各小網絡的鏈結，以其自動化與人工智能的知識、技術、產業鏈結人才訓練網絡，以新網絡思維來建構新的網絡分類學，達到永續目標。現今地理資訊系統，以地理位置系統(GPS) 為鏈結點，而其中的生物資訊則需要以物種學名為鏈結點。生物學名，由單名法、二名法到三名法都需要經過生物專家鑑定，提供正確有效名，才能與全球的資訊系統連結，才能達到快遠準的目標，因此網絡分類學-應該是今日解開多面向議題的通用鑰匙。曾經有實例 BioNET 提供一個平台告訴大家分類學能力提升的重要性，尤其是 2010 生物多樣性年(IYB)，將原來的 Taxonomy matter 強調分類學鑑定的個案對全球各領域的重要性，當然農業方面也是受影響的一大部分，這類網頁就是要協助開發中國家，利用網絡分類學提供生物鑑定的服務，這也是以分類學實力發展鑑定工具軟體的概念。確保網路數位資訊及人類知識的永續發展，請支持生物分類學。

關鍵字：網絡分類學，基礎科學，應用科學，害蟲鑑定，資訊整合平台。

前言 - 台灣昆蟲分類研究概況

台灣六足總綱之研究回顧及現況一文，吳文哲教授等 11 位昆蟲分類學家共同發表的文章，回顧台灣昆蟲研究開端記錄可追溯

自 1684 年當時福建巡撫金鉉主編的《福建通志》開始，1895 年到 1945 年日據時期由日本人主導的研究調查。1945 年台灣光復後，昆蟲學研究以蟲害防治應用方面為多，原因值得討；國內外學者的研究，台灣昆蟲物種數

*論文聯繫人

E-mail: jtyang@dragon.nchu.edu.tw

約得 14,000 種 (吳文哲等 2008)。歷經超過 100 年的累積，針對分類系統探討目、科或屬級昆蟲相調查，或分類學修訂的文獻則較少，1980 年後，主要是楊仲圖教授領導的中興大學團隊與台大楊平世，吳文哲與朱耀沂教授領導的團隊，這個問題獲得改善，詳細請參考台灣昆蟲人力分析(楊正澤 2001b)。期間 1980~1984 年間國科會鑑於台灣生物資源之重要性，為進行台灣昆蟲相調查，資助台灣大學植物病蟲害系與農試所應用動物系進行採集調查。楊正澤(2001)指出 1990 年之後至 2007 年，分類人力增加不多，但是研究發表的水準有明顯提升。時至今天，許多原來沒有人研究的分類群，已經有年輕分類學家投入，昆蟲分類群涵蓋的各目已有逐漸擴大的情形，包括動植物防檢疫重要害益蟲的分類群。根據台灣昆蟲(六足總綱)記載種數，由馬駿超(1956)與朱耀沂(1998)所記錄約 11,777 種及 13,973 種，又楊正澤(2001)依 1997 年已大量文獻回顧統計 17,634 種，逐漸累積到 19,793 種 (吳文哲等 2008)。在這之後，常有發表台灣物種數，18,000 種，或 19,000 種甚至估計 20000 種，都未見引用文獻。這類情形將來在網絡分類學，只要網路上出現關鍵字 "台灣昆蟲物種數"，就會有各網站物種統計數字，還有該篇文獻出現，時間與前提清楚，統計數字才有意義。

網絡資訊快遠準，物種統計變成紀錄

Lenard Kleinrock 1962 提出網際的革

命性概念，直到 1969 架構才真的誕生，資訊以 packet 傳遞，因為網絡越來越發達，資訊越來越快速，又準確，由很多小世界網絡組成的複雜網絡，讓資訊再有訊號的地方，無遠弗屆。台灣生物多樣性資訊機構 TBIF(Taiwan Biodiversity information facility)是全世界在生物多樣性公約下的全球生物多樣性資訊機構 (Global Biodiversity Information Facility, GBIF)的一支。楊正澤(2021) 根據 2021 年 4 月上網 全國生物多樣性入口網站 TaiBNET 記錄台灣昆蟲種數已達 23,451 種 (https://taibnet.sinica.edu.tw/chi/taibnet_reference_sum.php, Accessed date 20210414) 比起 2014 年 TaiBNET 記錄台灣昆蟲種數 21,493 種。事隔 7 年已然增加了 1,958 種，約增加 9.1%。以 2021 年臺灣的紀錄而言，昆蟲占動物種數的 59.1%，占節肢動物約 80.1%。昆蟲種類繁多，就已發表種數之百分比 10-15 %來估計，臺灣應有昆蟲約 18-20 萬種(楊正澤 2021)。

這是強調網絡分類學隨時更新資訊，並在網絡世界呈現各樣的分析結果，這些物種數已經沒有時空的隔閡，也不再有文獻記載或有估計差異的問題。其實，這些數字是動態性，可以用機械學習或深度學習甚至主動爬梳蒐集網路資訊，立即更新。因此防檢疫害蟲的鑑定，分類學家應該不只提供名字 (name)，更應該提供診斷特徵 (diagnosis characters) 供判斷，及圖像 (picture) 供比對。以往只是提供物種數名字，沒有存證標本或

圖片。在網絡分類學，更進一步，希望應用學者加入鑑定服務網絡，例如研究形態學，解學等，可以充實特徵，供網絡學習提高辨識能力，生態調查提供生態特性與地理分布，這樣回饋資訊與數據，充實資料庫，並能強化分工合作的可行性，提供網絡分類學所需的語意學，建構網絡分類學的資訊系統。

農業昆蟲鑑定服務網絡目標的再確認

昆蟲分類人力與防檢疫害蟲鑑定服務網絡 1997 年提出後，叫好不叫座，付費可以提升鑑定服務品質與效率，但是還沒有落實，至少應該在政府補助或委託計畫或任務中，可以發揮作用。本文以楊正澤 (2001b) 所提出的農業昆蟲鑑定服務網絡目標，以及人力短缺的挑戰，以強調網絡科學在生物學研究應用中，其網絡節點連結小網絡的結構特性，當作分類學網絡特性的再確認。

- 1.蒐藏國內農業等昆蟲研究之存證標本。
- 2.成套收藏農業昆蟲各發育期之標本及相關文獻。
- 3.提供農業昆蟲展示及解說教育之場所與資源。
- 4.整合昆蟲分類師資，開設農業昆蟲鑑定技術訓練班、副分類學家養成訓練及害蟲調查預警人力訓練等課程，協助推廣教育。
- 5.整合昆蟲分類專家成立鑑定服務網，協助各類害蟲鑑定。
- 6.分類人力不足的問題已經是分類學的全

球性障礙。

當時構想就以分類學家的專長的分類群同行交換資訊與鑑定服務，最理想國際合作思維是以專長分類群互補性為基礎，至今未見有效鑑定服務網整合，又見大環境改變，分類人力短缺，分類學因為網絡科學發達，國際交流越來頻繁，網絡分類學水到渠成，以 2010 所提的目標再確定，鑑定服務網絡建立的新策略與使命，因此再度提出呼籲，多多利用網絡分類學聯合國際，網際同行科學家迅速，有效完成昆蟲鑑定任務。

許多昆蟲資源調查計畫，鑑定的量能不足，已經造成計畫執行的障礙，因此發展出一套鑑定到科的原理，主要是以昆蟲分科的生態功能群為生態學的單位，訓練學生使用檢索表為工具，鑑定到科級分類群 (楊正澤 2003)，正好是中興大學分類學的教育目標，這樣就能稍為解決鑑定的問題。

至於本文加上的第 6 項，應該是傳統分類學長期以來的困境，一篇由 45 位多國作者合寫了一篇文章，探討一個近 30 年來一直被討論的分類學障礙與挑戰，試圖解決目前引起的生物多樣性普查、研究與保育的危機 (Engel *et al.*, 2021)。這主題開始於 2000 年系統學議題 "分類學障礙"，這使得具體的生物多樣性的事實與我們真正所了解之間存在很大差異 (Dubois 2010)。2010 年開始，我也在 google 搜尋引擎以關鍵字，"taxonomy insufficiency" 蒐集文獻，關注分類學人力不足的問題，2010 年 10 月本人

應邀赴馬來西亞自然學會演講，題目就是人力缺乏造成保育類等級劃分(ranking)的物種資料缺乏(楊正澤 2010)。在該文章中的障礙，大概是我們常說的分類學式微(degradation)，一般指資源的不足，包括經費與人力不充分。至於前面所談，分類學以基礎科學支援應用科學是 2030 年永續目標之一，這需要科學政策與科學倫理與科學研究的整合。以過去分析結果發現分類群偏向，如今，有一部分的分類群已經有新進人力投入，網絡的功能雖然也是人力可以互補，但是，網絡分類的管理，還是需要專門人力與經費資源設備支持。

網絡資訊取得，分類與鑑定操作程序的互補性

分類學由下而上，建立分類系統，鑑定依據分類系統，由上而下。基礎科學工作內容及訓練重點，有時偏離應用科學所需，例如標本檢查，取得標本館管理員的同意，同時需檢查標本下方是否有標本籤，是否為模式標本？在標本檢查時依照需要及檢查者之研究目的，要求不同程度的檢查程序，而程序決定取得的資訊量與品質，但是分類學所需的鑑定只是暫時性的，應用學者則是需要終極答案。

分類學的操作與鑑定需求的資訊有逆勢發展的情形(表一)，分類學所提供的資訊分類學以命名物種為例，先比對已知的物種，發現不同的新特徵，然後經過多方求證，列出下列各項資訊，加上圖示，照片，現代新的特徵，

最後蒐集類似標本檢查，列出這一物種的世界分布。但是，應用科學，如植物檢疫需要立即鑑定出物種的名字，有了名字，便能在網路上蒐集資訊，這個名字需要是生物學專門使用的科學名字，然而以求名為出發點，操作上如依上述的流程，所得到的結果與分類學者所需要的當然兩極化。因此，網路資訊的取得基於分類學的基礎，卻被斷章取義，只要生物學名，況且學名變動，乃基於描述的特徵。屬的特徵可能一開始只是依據一個模式種(type species)，更多相近物種發現，這個屬的定義就要修訂，更多物種是基於許多標本的採集與檢察，標本的紀錄又改變物種的分布，到頭來，還是需要以分類學的方法，好好檢查標本，才能確保鑑定的正確性。如此一來，應用分類學牽涉生物，生命的研究，生物分類學的重要性與分類學家的貢獻自然要受到重視。

成立農業昆蟲鑑定服務網，整合人力

農業昆蟲方面，防檢疫害蟲的鑑定項目居多，回饋新分類學特徵(請參考下一段現代分類學內容)，申請鑑定資料表中的必填項目，研究計畫或主題，鑑定依據的表格是根據昆蟲在農作物，農業生態系，以及在自然生態系，甚至居家或倉儲，運輸工具或包裝材料等考量，這些詳細的討論，請參考 2022 年另一篇拙作(楊正澤 2022)1997-2001 年間，農業及森林生態系昆蟲多樣性調查等相關拙著(楊正澤 2001a ; 2003)以及最近的生物多樣

性的本質與價值(楊正澤 2021)。

網絡分類學的語意學，基礎與應用科學合作發展

生物科學的系統化本質，適合小網絡運作，以分類學有用的特徵系統連結回饋資訊成為網絡分類學的語意學資訊系統。

1. 現代分類學的思維增加生物學特徵

系統分類學自林奈 1753 年開始，主要是以形態學為基礎的分類鑑定，100 年後達爾文演化論，生物系統分類善用生物學特徵，現代分類學一般將生物分類特徵歸為四大類：(1)形態特徵(內部外部的，微細的、細胞學的及發育的特徵)；(2)生理及化學特徵(次級代謝物、分泌物、蛋白質、胺基酸及 DNA 序列)；(3)行為特徵(趨觸性、趨地性、負趨光性)；(4)生態特徵(棲所、食物、寄主、寄生者、季節)；(5)分布(動物地理區、海拔高度)。

利用形態特徵可以依據已知分類群傳統分類系統作正確之鑑定，因此農業昆蟲為主的鑑定申請表的要件，加上新分類學的特徵，經過評量，選出好特徵，提供應用研究之需。

2. 生物多樣性的生命現象本質，深化特徵的系統化

根據昆蟲生物多樣性的本質(楊正澤 2021)可以匯集相關的生態學與行為學

特徵，以及植物學相關的特性，尤其是寄主植物專一性。再者以昆蟲與植物之關係密切，其生活史過程中利用的部位，除取食葉片之外，更常利用植物的各部位產卵、造瘿、化蛹，甚至蛀食其中，因此生態特徵之棲所特性，及各種行為特徵以其偏好性供判斷害蟲躲藏位置是很有利的特徵。根據楊正澤(2001)引用劉元明(2000)農業植物檢疫範圍也可以增加檢查部位，包括種子、塊根、塊莖、球莖、鱗莖、接穗、砧木、試管苗、細胞繁殖體等繁殖材料等特性，上述植物、未經加工或者雖經加工但仍有可能傳播疫情的植物產品以及可能受疫情污染的包裝材料，這些都是需要應用學者盡量回饋來建立及補足此類特徵建立資訊語意學。能廣為蒐集生物特徵，提高鑑定速度與正確性，就算只能鑑定出所屬高階分類群，也能以分類架構的預測價值，快速提供生物學資訊，發揮鑑定成效，以利採取行動。

3. 持續發展的新科技，產生新的特徵

當然，達爾文之後，再 50 年，才有孟德爾的遺傳學，如今大家廣泛使用的分子生物特徵，在新分類學中的生理化學特徵所提的 DNA 和今天的分子生物特徵，不可同日而語。應用昆蟲學的害蟲鑑定新技術，隨著生物科技發展，一日千里，由於更多害蟲鑑定新技術不斷發展翻新(楊曼妙 1996)，防檢疫害蟲有些例子如變種、品系、生物小種、地理小種等種以下分類

階層(infra species)不在 ICZN 對分類系統的定義範圍以及生物不同發育期的樣本判定問題之解決，確實需仰賴分子生物特徵，但是，投入的研發在昆蟲鑑定上也許只算是一個副產品，但卻是給了生物分類學一把絕佳利刃。

這些特徵都是生物生命表現的特徵，就是生命現象，也是支持生物體適應環境變化，而能適應生存造成現存生物多樣性的基礎。因此，網絡分類學需要利用鑑定服務網絡運作的過程 (operation process)，以網絡分類學為基礎匯集所有特徵及生命現象的專有名詞與參數的語意學(semantics)。

國際防疫檢疫網絡的個案與消息流通

現在網絡發達，國際國內已經到了網網相連的地步，重要的是，這些對資訊發現，分析與因應的處理。有效偵測新入侵重大檢疫害蟲則需借重正確研判及使用調查採集方法如依輸出國及輸出產品特性，得知特定對象，則可提前因應。如光肩星天牛(*Anoplophora*)一例，原來事先得知當時旅美的謝德科先生寄來紐約剪報消息，掌握台灣已有同屬 12 種(含亞種)，但未見光肩星天牛紀錄，對美國國會訪問團團回覆，台灣並無此紀錄，但實際美國農部來查標本卻發現疑似紀錄，這類問題，應該是陪同鑑定時，須謹慎從事，必須等原始描述特徵及模式標本比對確認才能認同，其他尚有多樣例證，請參考楊正澤(2001)。在農

場，檢防疫現場實體的生物標本採樣，鑑定，需要真正的生物活體或標本，或其產生的相關生活跡證。分子生物證據的分析只需要分類學家配合，協助提供標本或鑑定，或分類學家為了分類特徵，或雙重鑑定需要分子生物技術的協助與配合(路光暉等 2003)，全力投入，可能導致歧路亡羊，分類專業人力資源，可能短缺，如果利用網絡觀念與實際架構，雙方互利的合作，應該可以製造雙贏。

網絡分類學的新型態文獻蒐集與交流

分類學發表的文獻類型多樣(楊正澤 2001)，引用與鑑定工具之蒐集，最好是以分類群或昆蟲相修訂文章或分類群各階層的專論為主。其實現行科學發表的學術積分與成果表現的要求下，分類學發表原則已經大大改變，以前地方昆蟲相(local fauna)建議在當地發表，盡量不要單一種發表除非必要時有需要新種發表，許多分類學著作，沒有在分類學雜誌發表，分類學雜誌也網路化，因此由文獻蒐集而言，網絡分類學變得更加容易，也不用隨時注意有相關分類群的著作出版，當然專業分類群的群組聯絡與交流還是有其必要與重要性。

網絡分類學在文獻蒐集與流通的變化之下，分類學著作發表型態也可能會隨之改變。國內分類學家昆蟲誌的出版似乎取代了以圖片為主的昆蟲生態圖冊，但是，昆蟲誌的撰寫應該要考慮改為編輯，讓分類學發表的修訂或專論，經過專家組織的編輯小組，出刊成為國

家生物誌，這也是網絡分類學可能的正向回饋。Amarathunga (2021) 一篇利用系統化的文獻綜述 (SLR) 分析和比較以擷取圖像鑑定昆蟲的研究，利用文獻回顧，歸納主要的數據集的屬性，針對的昆蟲種類、作物、地理位置、圖像捕獲方法，和昆蟲分類技術等，根據分析提供未來物種分類及鑑定資訊研究的建議。

建立網絡分類學分類專家工作群

我國的島嶼情勢，國際貿易發達，人流移動貨物流通，邊境檢疫責任加重，防檢疫害蟲鑑定需要增加，以分類學家的專長分類群組成正式分類專家工作群，並設專職協助協調整合規劃，加強人員訓練以昆蟲分類系統架構清列名錄，歸納出常見的昆蟲高階分類群，過去入侵本地的農業害蟲(楊正澤 2001)，又有 IUCN 國際入侵種專家群全面普查全球入侵物種，提高這類入侵的警覺，因此這些業務徒增鑑定的需求，因此應組成分類專家群以便分擔工作壓力。

長期以來作者以為可以訓練第一線之檢疫人員為副分類學家(parataxonomist) (楊正澤 2001)，因為各樣因素，檢疫人員實在無法勝任，因此，如今建議各分類群專長分類學家組成專家群，分擔工作壓力，發揮學術應用價值，以專長分類群組成專家工作群(taxon working group)協助應用學者加強分類學基礎的防檢疫害蟲鑑定工作，才不至於拖垮分類學家的研發能量。

確保網路數位資訊及人類知識的永續發展，請支持生物分類學

今天享受的生物資訊，基礎來自分類學家的努力。生物學之父，也是分類學之父，卡洛斯 林奈，三百多年來，許多和他一樣從事物種命名的分類學家，由野外採集，接著逐一蒐集，描述，命名，發表的過程，經過他們的努力，今天面對一個物種時，我們才能自然且準確的獲得一個科學名字可以溝通，這絕對需要藉著各領域的發展同步成長，經過一段辛苦又單調的鑑定分類命名的研究歷程，請支持最基礎的生物分類學，以確保網路數位資訊及人類知識傳承的永續發展。利用大數據分析歸納網絡分類學的重點技術及語意學開發，以影像擷取技術來比對，鑑定時需要分類學家參與確認，以及分類系統的選用才能發揮分類系統的預測價值。

參考文獻:

楊正澤。1997。昆蟲分類與害蟲防治。昆蟲生態及生物防治研討會專刊(1997年1月14-15日，台中國立科學博物館)。中華昆蟲特刊第十號 (No. 10) : 41-55。

楊正澤。2001a。防檢疫害標本鑑定與分類之技術。植物重要防檢疫害蟲診斷鑑定研習會。pp. 113-138。台中國立中興大學。167頁。

楊正澤。2001b。台灣昆蟲分類人力普查與鑑

- 定服務網絡構築。跨世紀台灣昆蟲學研究之進展研討會。pp.175–191。2001 年 12 月。台中國立自然科學博物館印行。412 頁。
- 楊正澤。2003。**森林昆蟲群聚生態功能多樣性分析 - 以科級分類群為基礎。pp.35–58。「第四次野生動物研究與調查方法」研討會論文集。2003 年 11 月 07 日。台北。野生動物保護基金會編。104 頁。
- 楊正澤。2008。**生物多樣性監測與昆蟲存証標本蒐藏。昆蟲與蠅蟬標本資源之管理與應用研討會專刊(黃坤煒、詹美鈴編, 國立自然科學博物館):141–156。昆蟲與蠅蟬標本資源之管理與應用研討會。2008 年 5 月 9-10 日。台中。
- 楊正澤。2021。**昆蟲生物多樣性的本質與價值。科教研習。60(3). (<https://www.ntsec.edu.tw/LiveSupply-Content.aspx?cat=6839&a=6829&fld=&key=&isd=1&icop=10&p=1&lsid=16895> Accessed date 20220801)
- 吳文哲、蔡明諭、王清玲、李奇峰、陳淑佩、楊正澤、楊曼妙、蕭旭峰、顏聖紘、蔡經甫、Dávid Rédei。2008。**台灣六足總綱之研究回顧及現況。2008。台灣物種多樣性 – vol.1. 研究現況(邵廣昭、彭鏡毅、吳文哲 主編)。行政院農業委員會林務局, 台北。151–160 頁。
- 路光暉、張世忠、許昭元、楊正澤。2003。**傳統與現代技術的結合 - 以蘋果蠹蛾 SDGs)。SDGs 包含 17 項核心目標, 其中又 (鱗翅目: 捲葉蛾科) 的鑑定為例。植物保護學會會刊 45(4): 359–364。
- Amarathunga, D. C., J. Grundy, H. Perry, and A. Dorin. 2021.** Methods of insect image capture and classification: A Systematic literature review. Smart Agriculture Technology. 1 (2021). 100023. <http://www.elsevier.com/locate/atech>
- Dubois, A. 2010.** Zoological nomenclature in the century of extinctions: priority vs. usage. Organisms, Diversity & Evolution 10: 259–274
- Engel, M. S. et. al. 2021.** The taxonomic impediment: a shortage of taxonomists, not the lack of technical approaches. Zoological Journal of the Linnean Society. 2021: 1–7. (DOI: 10.1093/zoolinnea/zlab072.)
- Yang, J. T. 2010.** Assessing the status of endangered or threatened Orthopteroid insect (Insecta) from Taiwan. Malaysia Natural Society, MNS 2010 International Conference "Challenges & Solutions for Tropical Biodiversity". Malaysia. (8-9. Oct. 2010)
- 2015 年, 聯合國宣布了「2030 永續發展目標」(Sustainable Development Goals, 涵蓋了 169 項細項目標、230 項指標。

表一 標本比對檢查程序與分類學所需資料取得與使用的相對關係

標 本 比 對工作 程 序 由 簡而繁	比對檢查內容	分類學所需資料	物種之分類學工作內容
程序 1	標本箱外觀察標本。	Heading	1. 物種或分類群名為標題 2. Name, Author, Year 完整呈現。
程序 2	將標本由標本箱中移出，檢查完畢，如有抽出標籤，並需盡量插置回同一針孔。	Synonyme	物種分類群修訂的分類史。 由新的分類特徵對前人研究過分類群進行修訂，分類修訂的過程，
程序 3	移動標本籤，確認標本狀態 需要依原來的順序復原。	1. Synonyms 2.Type depository	1. 同上 2. 模式標本所在的博物館與國家。
程序 4	針插標本為例，將昆蟲針與標本分開，應先輕轉針頭，再小心抽離，也可先以熱蒸氣軟化標本，或 70%酒精沾濕標本與針身接觸位置，再將昆蟲針抽離，或脫離連貼台。	1. Description 2. Measurement Morphology 3. Habitat 4. Diagnosis 5. Name bearing type 6. Distribution	1-4.針對標本進行描述， 原則為前至後、大至小，外而內， 輔助特徵(新分類學的特徵)。測量 值是體型大小，也是身體形態描述 量化特徵。 5.判定物種間差異的主要依據。 6. 指定模式標本。 7. 物種的分布資訊，可用於生物 地理分布。
程序 5	解剖標本，大型標本可以只將腹部浸泡於 KOH 水溶液中，靜置一天軟化，再解剖出雄性生殖器。	Specimen examination	列出標本採集資訊，包括性別、數量、地點、日期、採集者。
程序 6	檢查標本，比對特徵，盡可能多比對。	Remarks	討論相近物種的比較判斷與該物種遇到的一些分類疑問，供其他研究學者參考。

附錄 1

國立中興大學昆蟲學系
農業昆蟲鑑定及存證標本中心
鑑定申請資料表

一、案件登記

案件編號：_____ 接案人：_____ 日期：_____

二、要求鑑定者

姓名：_____ 服務機關：_____

單位：_____ 職務：_____

電話：_____ 傳真：_____ 電子信箱：_____

連絡地址：_____

研究主題：_____

要求完成鑑定時間：_____

三、害蟲鑑定表所需的特徵及資訊內容

1. 作物（寄主）名稱，中名：_____ 種學名：_____

1a.作物生長期：苗期、營養期、開花期、結果期？（可複選）

1b.作物部位：根、莖、葉、花、果實、種子？（可複選）

1c.作物生長狀態：健康、衰弱、死亡、枯萎、乾枯、部份腐爛、全部腐爛？
（可複選）

2.採集地相關資料

2a. 採集地：

國內：縣市_____ 鄉鎮_____ 特定地點_____

國外：國名_____ 省（郡）名_____

2b.地形：海拔高、沿海、河岸、山區、林地、草原。

2c.特殊環境：機場、港口、火車站、高速公路沿線、果菜市場集散地、
倉儲中心、廢棄物堆積場、其他_____。

3. 採集時狀況（附照片或簡述）

3a.有無其他發育期個體同在？

3b.當時體色、體型？

3c.是否偶發？

3d.是否交互危害？

3e.是否外來危害？

附錄 2

國立中興大學昆蟲學系
農業昆蟲鑑定及存證標本中心
鑑定結果報告表

案件編號：_____ 接案人：_____ 日期：_____

1. 昆蟲標本鑑定結果：

1a.發育期：卵_____幼蟲_____蛹_____成蟲_____其他_____。

1b.分類群：

鑑定者：_____ 鑑定日期：_____

目：

科：

屬：

種：

1c.相關專家：

1d.是否代送鑑定？否____；是____，送出日期_____

2. 鑑定特徵

3. 參考文獻

作者：_____ 發表年代：_____ 期刊：_____

卷（期）頁數：_____ 圖號：_____

附文獻影印本：是____；否____

4. 存證標本

已提供 _____；

未提供 _____；預定隨文獻發表時提供（計畫完成時間：____年__月）；

未提供者列管號：

附錄 3

[illegible]

Cybertaxonomy, A master key to multifaceted issues

Jeng-Tze Yang^{1,*}

Retired professor, National Chung Hsing University, Taichung, 402, Taiwan.

Abstract

Cybertaxonomy is not what you think the study of network science, it is an information integration platform working as network for basic science like as taxonomy, and biology to link the applied science such as sociology, economy, humanity. To make the coworker environment and the performance stage in internet as a new synthesis after the new taxonomy · that we called Cybertaxonomy here by. This is the possible resolution for the problems happened while taxonomy faced degradation and obstacle in financial support · taxonomic man power shortage. Recently the digitalization of museum collection and display consumed large amount almost all of the resources of taxonomy including the taxonomic discipling. In fact, the requirement of insect pest identification of animal and plant quarantine and plant medical science. The centroid of the Cybertaxonomy is the scientific name of organism. It is the same as GPS served as the centroid of natural events. The two networks actually connected by the scientific name for the natural history. For the sake of the multifaceted issues increasing the requirement of taxonomic services depends on the taxonomy, nevertheless, to dissolved the problem in speedy, far-reach, and correctly is necessary in the Cybertaxonomy. There was a BioNET internet network provided a plate-form based on taxonomy to emphasize the taxonomy capability enhancement is very important to make the task of international year of biodiversity (IYB)possible. The help is to all fields that identification creatures is necessary, of course, the agriculture also inclusive. This kind of network was established to accelerate the developing countries in the way of cybertaxonomy. This is actually encourage the taxonomist to study and

*論文聯繫人

E-mail: jtyang@dragon.nchu.edu.tw

develop the identification tool as software for sustaining the sustainability in the near future.

key words: cybertaxonomy, basic science, applied science, insect pest identification, information integration platform.

檢防疫重要性果實蠅（雙翅目：果實蠅科）診斷鑑定要領

黃千育¹ 蔡偉皇² 蕭旭峰^{1,*}

¹國立臺灣大學昆蟲學系。台灣 台北市。

²行政院農業委員會。台灣 台北市。

摘要

果實蠅科 (Tephritidae) 是雙翅目 (Diptera) 中一個很大的類群，已知有超過 1000 多屬 5600 多種，廣泛分布於世界各地。果實蠅對於農業經濟的影響甚鉅，其幼蟲能直接危害植物體的莖、葉、花、果實及種子，尤其以危害植物果實所造成農業經濟的損失最大，其中較具經濟重要性的有 *Anastrepha*、*Bactrocera*、*Ceratitis*、*Dacus*、*Ragoletis* 及 *Zeugodacus* 等 6 屬的果實蠅。果實蠅的幼蟲能夠隨著寄主的進出口而散布到新區域，成蟲飛行能力強，一旦在新區域立足便會迅速擴散成為該地區新的經濟害蟲，所以各國均將果實蠅科的種類列為重要的檢疫防疫害蟲，加以嚴格的管制以遏止其散布，並防止農業產品受到威脅。果實蠅的種類繁多，雖然以外部形態特徵作為鑑定依據是最基本的方法，但有許多具經濟重要性的種類，雖然生活於不同地區，其外部形態特徵卻十分相近不容易區分，一旦入侵必定會造成嚴重的損失。本文簡介目前世界上 6 屬主要檢防疫害蟲種類及其分類鑑定要領，特別著重於分布於亞太地區的重要寡毛實蠅亞科(Dacinae)物種鑑定之特徵區辨。

關鍵詞：分類學、鑑定、形態學、紋翅實蠅亞科、寡毛實蠅亞科。

前言

綱科以上學名中名對照表(中華昆蟲學會 1994)，果實蠅科的分類地位如下：

據 1994 年中華昆蟲特刊第九號—昆蟲

*論文聯繫人

Order Diptera 雙翅目

Suborder Brachycera 短角亞目

Infraorder Cyclorrhapha (Muscomorpha) 環裂下目

Section Schizophora 有縫組

Superfamily Tephritoidea 果實蠅總科

Tephritidae 果實蠅科

全世界目前已記錄共 5,662 種分屬於 1,038 屬(<https://www.gbif.org>, accessed in June, 2022)·除南北極外·各地理區均有分布·為世界分布的類群。以舊大陸及熱帶地區為主要分布區(Thompson 1998)·英名為 fruit fly·常與果蠅科有所混淆·然而果蠅科為果蠅總科中的一員·與果實蠅分屬不同總科·分類地位相距甚遠。雖然果實蠅的英名為 fruit fly·但是並非只以果實為食·據統計僅有 35% 的種類·其寄主為果實(White & Elson-Harris 1992)·大約 40% 會危害菊科及薔薇科植物的花器·其他種類會產卵於莖或葉上·為潛食性的種類·部分種類則會形成蟲癭·少數種類可用於雜草生物防治上·另外有非常少的種類是非植食性的·會行腐生或寄生生活。

果實蠅以植物為寄主·對農作物會常造成嚴重危害·以澳洲為例·每年水果的產值達 8 億 5 千萬澳幣·但是·如果不防治果實蠅·每年將造成將高達 1 億澳幣以上的損失(FAO 1986)·Dowell & Wange 1986 年時列舉了

在加州造成重大為害的 8 種果實蠅·所造成的為害大約為 9 億 1 千萬美元·並且需要花費 2 億 9 千萬美元來執行防治的工作(FAO 1986)·此外·在我們的鄰國日本·曾投入了 50 億日圓(約合 3 千 2 百萬美元)·以及 20 萬人次來施放不孕性雄蟲·以滅絕琉球群島上的東方果實蠅 (*Bactrocera dosalis* (Hendel)) (FAO 1986)·在 EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) 所列舉的 A1 檢疫害蟲中 17% 為果實蠅類的昆蟲 (<https://www.eppo.int>, accessed in June, 2022)·可見其在經濟上的重要性。依據我國“輸入植物及植物產品檢疫規定”中所列·其中甲類禁止輸入及乙類有條件輸入原因中昆蟲及蟎類種類·果實蠅佔比竟高達 47%·而乙(十)類有害生物清單中昆蟲類 342 種中·果實蠅也佔了 32 種·約達 10% 的物種數目 (<https://law.coa.gov.tw/GLRNewsout/LawContent.aspx?id=GL000134>, accessed in June, 2022)·果實蠅害蟲不僅在防疫上造成

重大困擾，同時也是國內外關切的主要檢疫害蟲類群。

科級分類及分類特徵

一、科級的特徵

果實蠅科昆蟲在科級的特徵上，可以分為頭、胸、腹三部分來說明：

(一) 頭 (圖 1)

頭部主要特徵為，具有前額縫 (Ptilinal

fissure)；額下側剛毛 (Inferior fronto-orbital bristle) 1 對、2 對或多對，額上側剛毛 (Superior fronto-orbital bristle) 多為 2 對；頭頂剛毛 (Vertical bristle) 2 對；頭頂後剛毛 (Postvertical bristle) 或稱單眼後剛毛 (Postocellar bristle) 1 對；後頭部近眼緣處具有後頭剛毛列 (Occipital row)；觸角不正形，觸角剛毛 (Arista) 上具軟毛或成羽狀或平滑不具軟毛；具明顯頰剛毛。

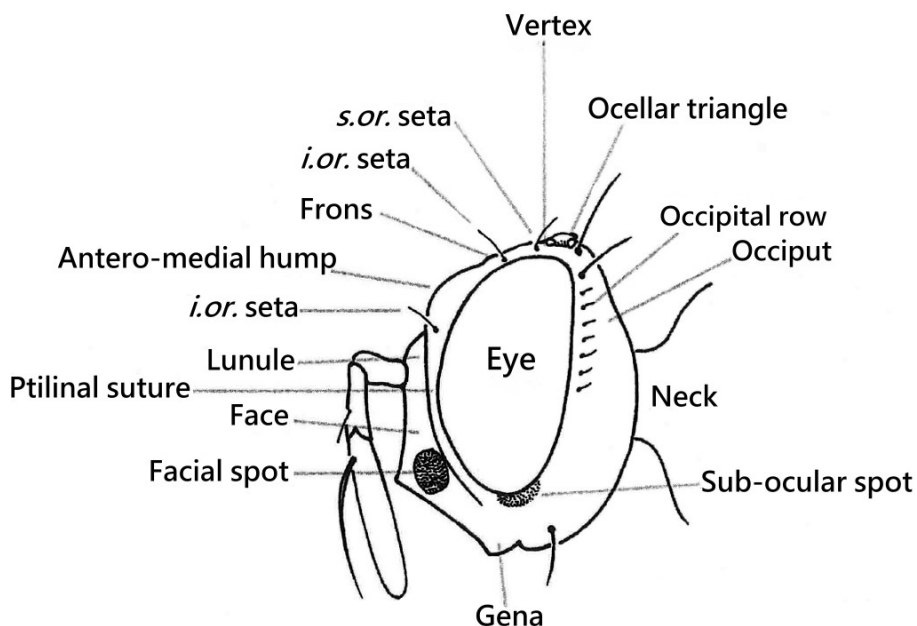


圖 1、果實蠅頭部各部位側面觀 (Drew & Romig 2013)。

Fig. 1. Head of fruit fly, lateral view (Drew & Romig 2013). i.or. seta, inferior fronto-orbital seta; s.or seta, superior fronto-orbital seta.

(二) 胸 (圖 2)

胸部雖分為前胸、中胸及後胸，但前胸及後胸小呈單一板片，在分類上並不重要，中胸背板被中胸橫縫分為橫縫前盤及橫縫後盤 2 部分，中胸橫縫不連續；具上膊剛毛(postpronotal seta)、肩剛毛(scapular seta)、前背側板剛毛(anterior notopleural seta)、後背側板剛毛(posterior notopleural seta)、橫縫前剛毛(presutural seta)、翅基前剛毛(anterior supra-alar seta)、翅基後剛毛(posterior supra-alar seta)、小楯板前剛毛

(prescutellar seta)、背中剛毛(dorsocentral seta)等，或缺少數對；中胸背板後盤之後具有小楯板，成三角形具小楯板剛毛(scutellar seta) 1-2 對，少數有 3 對以上；胸部背板上具有數條色帶或色斑。

翅上的翅脈(圖 3)為重要分類特徵之一，主要的特徵為，Sc 脈末端向上彎曲呈直角，甚多種類末端退化或消失，此亦為果實蠅科重要分類特徵；肘腎室(cup)橫脈形狀甚多，多為向外突起狀。

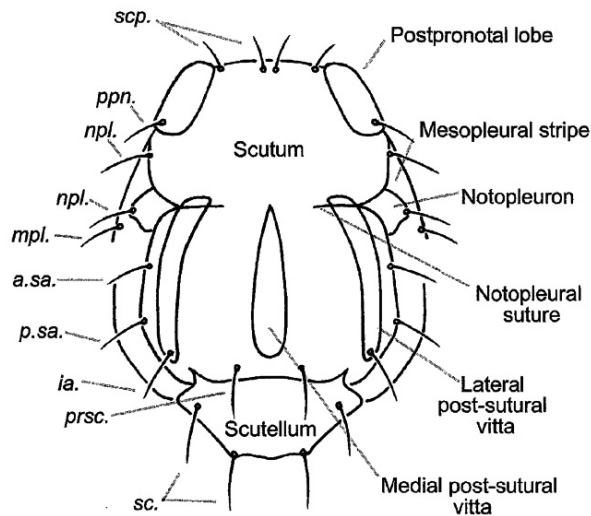


圖 2、果實蠅中胸背板之斑紋及剛毛列 (Drew & Romig 2013)。

Fig. 2. Color patterns and chaetotaxy on mesothorax of tephritid fruit flies (Drew & Romig 2013). Abbreviations: a.sa., anterior supra-alar seta; ia., intra-alar seta; mpl., mesopleural seta; npl., notopleural seta; ppn., postpronotal seta; prsc., prescutellar seta; p.sa., posterior supra-alar seta; sc., scutellar seta; scp., scapular seta.

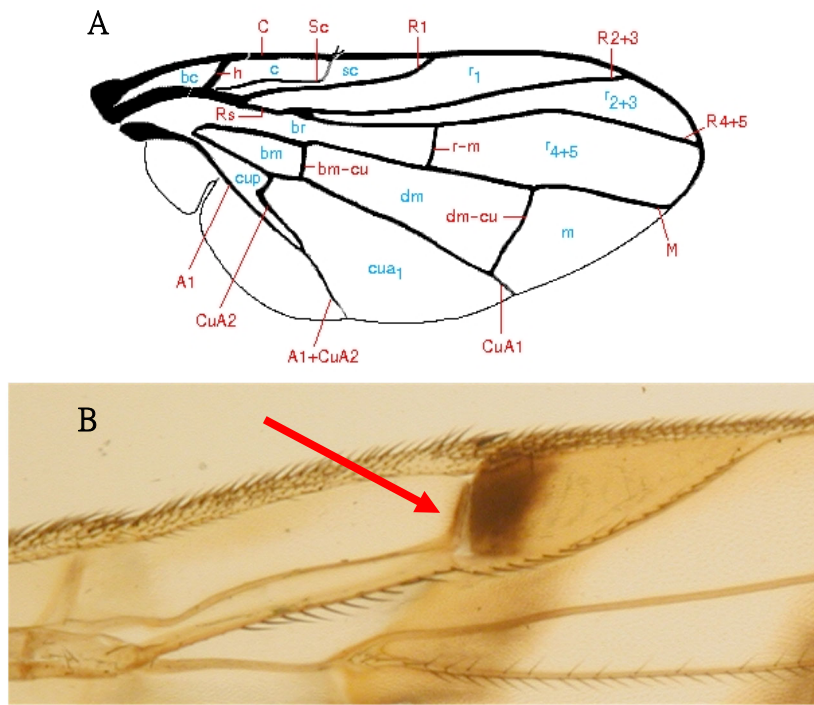


圖 3、果實蠅科翅脈圖。A，翅脈及翅室概觀 (Thompson 1998)；B，箭頭顯示 Sc 脈向上幾近垂直角度彎曲且其末端通常於接近 C 脈前消失。

Fig. 3. Wing of fruit flies. A, overview, wing veins and wing cells (Thompson 1998); B, the arrow indicate the Sc vein apically bent forward at almost a 90-degree angle and ending before reaching C as a family-level character.

(三) 腹 (圖 4)

一般成橢圓形或紡錘形，可見腹節，雄性 5 節而雌性 6 節；雄性第 9 節為生殖節，雌

性第 7、8、9 為產卵管節；雌性產卵管為重要之分類特徵。

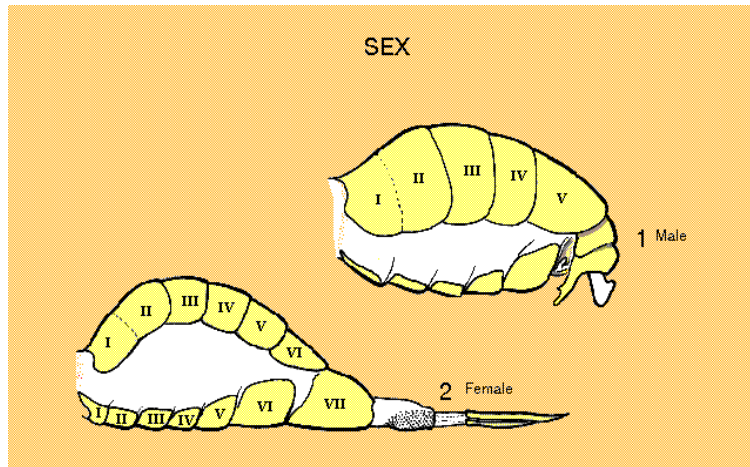


圖 4、果實蠅腹部。1. 雄蟲；2. 雌蟲 (Thompson 1998)。

Fig. 4. Abdomen of fruit flies. 1, male; 2, female (Thompson 1998).

二、亞科的變遷

早期果實蠅科下各亞科之分類情形於學界看法分歧，果實蠅科最初分成兩個亞科，但是有兩種說法，一是 Enderlein 在 1911 年利用單眼剛毛、背中剛毛之有無，將果實蠅分為寡毛實蠅亞科(Dacinae)及紋翅實蠅亞科(Trypetinae) 2 亞科，另一是 Bezzi 在 1913 年所提出來的 Dacinae 及 Trupaneinae，但往後的分類系統則根據 Enderlein 所提的架構。Hendel (1927) 沿用前者架構並增加斑

翅實蠅亞科(Tephritinae)。其後陸續有 Shiraki (1933) 將紋翅實蠅亞科分為紋翅實蠅亞科以及斑翅實蠅亞科(Tephritinae)，主要依據雌蟲最後腹節背板與前一腹節背板的長短比較。Munro (1935) 將果實蠅分為 4 亞科，即寡毛實蠅亞科、Adramoninae 亞科、紋翅實蠅亞科及斑翅實蠅亞科。Hering (1947)增加羽紋實蠅亞科 (Aciurinae)、U 紋實蠅亞科 (Euribiinae)、突鞘實蠅亞科 (Oedaspinae)、紋斑實蠅亞科 (Terelliinae)、

裂翅實蠅亞科 (Schistopterinae) , 提出了 8 亞科的亞科系統 , 為果實蠅科的亞科分類系統中亞科最多的階段。Shiraki (1968) 移除羽紋實蠅亞科與紋斑實蠅亞科 , 把果實蠅分為 5 個亞科 , 分別為寡毛實蠅亞科、裂翅實蠅亞科(Schistopterinae)、Euribiinae、紋翅實蠅亞科及斑翅實蠅亞科。Hardy 在 1973 與 1974 年的專著中提出 4 亞科的分類系統 , 分別為寡毛實蠅亞科、裂翅實蠅亞科、紋翅實蠅亞科及斑翅實蠅亞科。曾義雄等(1973) 則認為可分為 5 亞科 : 寡毛實蠅亞科、裂翅實蠅亞科、Euribiinae、紋翅實蠅亞科及斑翅實蠅亞科。而 Thompson (1998) 所著的專書中 , 所採用的是 3 亞科的系統。而張弘毅於其博士論文(2001) 中整理許多專家的看法 , 所用的是 5 亞科的分類方式。後 Korneyev (1999) 提出 6 個亞科論點 , 其中自紋翅實蠅亞科中分出菲實蠅亞科 (Phytalmiinae) , 整併原先屬於紋翅實蠅亞科的蠟實蠅族與腹帶實蠅族至寡毛實蠅亞科 ; 另外新增擬寄蠅亞科 (Tachiniscinae) 與 Blepharoneurinae 亞科 (暫無中文譯名)。

亞科的分類特徵

一、Tephritinae 斑翅實蠅亞科 (圖 5)

肩剛毛(scapular seta)缺如; 上方前側片上之垂直縫線缺如或退化; 後頭剛毛列之剛毛有些呈粗、扁形、白色或黃白色。

二、Dacinae 寡毛實蠅亞科 (圖 6)

觸角剛毛剛毛狀; 單眼剛毛、單眼後剛毛、

背中剛毛、橫縫前剛毛(presutural seta)、背側板剛毛(notopleural seta)及部分之上膊剛毛(postpronotal seta)均缺如; 肘臀橫脈較肘臀脈為長; 基中室 (bm) 約為肘臀室 (cup) 的 2 倍寬; 腹部第 5 腹背板後方兩側通常具有 2 塊略凹陷的斑。

Ceratitidini 蠟實蠅族 (圖 7)

觸角剛毛呈羽狀, 若為剛毛狀, 則其上具有很短的小毛; 頭部及胸部之剛毛列通常完整; 肘臀室後方具有延長的尖銳突起, 肘臀橫脈通常短於肘臀脈; 基中室約與肘臀室等寬。

三、Phytalmiinae 菲實蠅亞科 (圖 8)

觸角剛毛通常呈羽狀; 單眼剛毛細小或退化; 小楯板剛毛通常 3 對; 前足腿節腹面之長剛毛列發達; 雌蟲產卵管為原始的接觸形(tactile)。

四、Trypetinae 紋翅實蠅亞科 (圖 9)

觸角剛毛通常剛毛狀, 其上具有短的小毛; 單眼剛毛通常發達; 小楯板剛毛 (scutellar seta) 通常 2 對; 前足腿節腹面之剛毛僅數枚; 雌蟲產卵管特化, 成針狀、劍狀。

五、Tachiniscinae 擬寄蠅亞科

擬寄蠅亞科是一個種類數量稀少的寄生性類群, 多數不具有經濟重要性, 據 Korneyev (1999) 的定義, 此亞科的分類特徵如下: (1) arista short pubescent; (2) two postpronotal setae; (3) two

postsutural supra-alar setae; (4) oviscape opened posterodorsally; (5) eversible membrane without taeniae but with biventral area of dense, very dark, larger scales; (6) aculeus short, stiletto-like。

六、Blepharoneurinae 亞科

此亞科種類數量亦少，僅稍多於擬寄蠅亞科，是果實蠅科中種類數量最少的兩亞科，目前也未發現有害蟲種類。據 Korneyev (1999) 的定義，此亞科的分類特徵如下：(1) arista short pubescent;

(2) two postpronotal setae in the ground plan; (3) anterior (prephragmal) anepisternal seta present on the upper portion of sclerite; (4) vanes of the phallapodeme broadly separate; (5) scales on anterior half of eversible membrane well developed, but mostly tri- or multidentate with a large central tooth; (6) aculeus cutting, lobed or serrate。

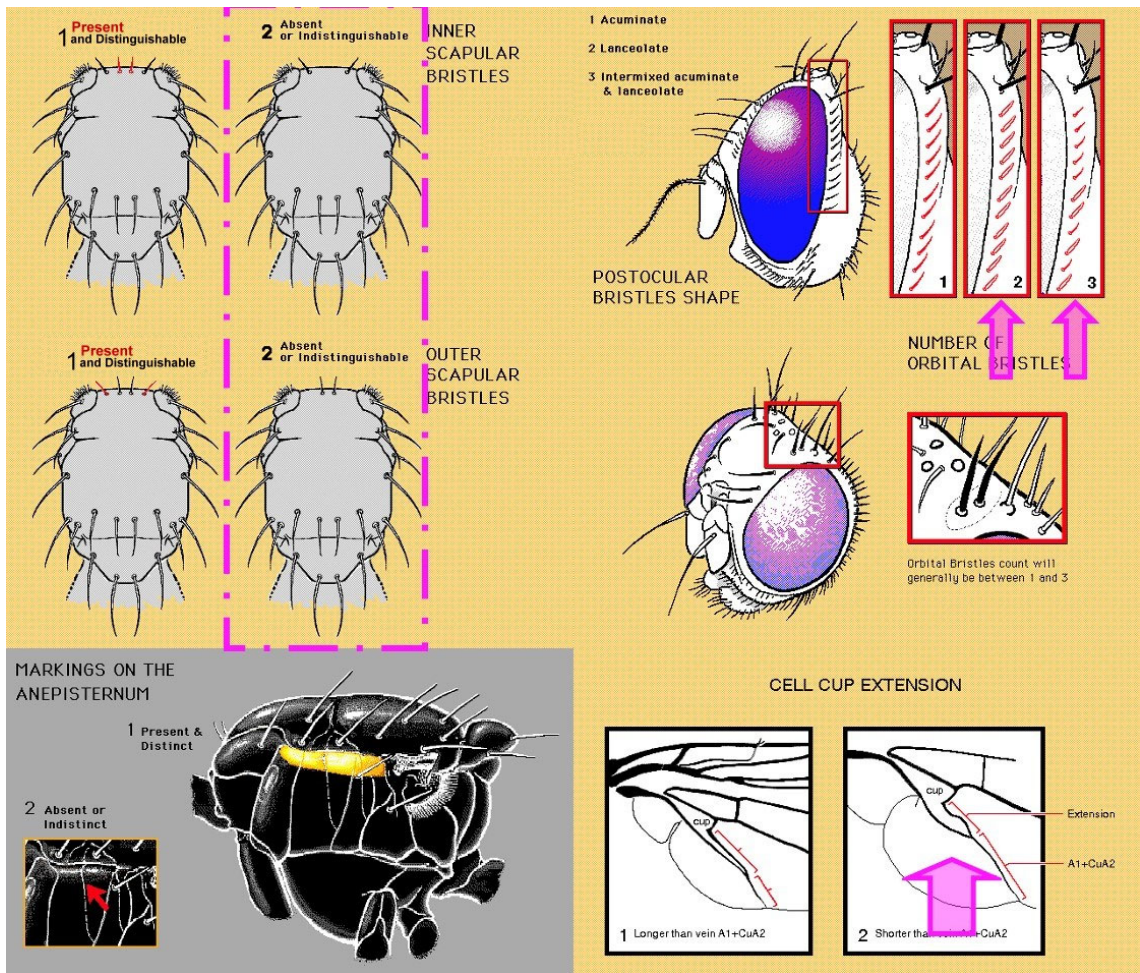


圖 5、斑翅實蠅亞科特徵。紅色箭頭及線框所標示為此亞科之形態類型(Thompson 1998)。

Fig. 5. Diagnostic characters for the subfamily Tephritinae. Red arrows and frames indicate the morphological types for this subfamily (Thompson 1998).

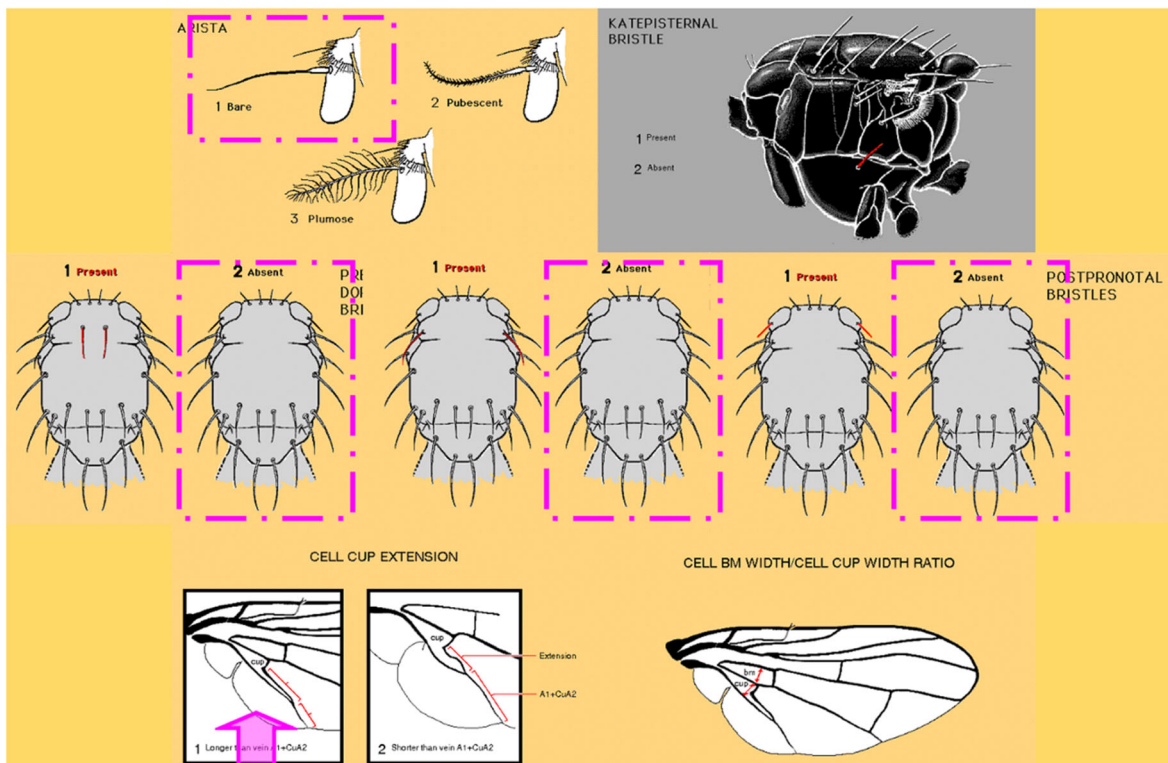


圖 6、寡毛實蠅亞科特徵。紅色箭頭及線框所標示為此亞科之形態類型(Thompson 1998)。

Fig. 6. Diagnostic characters for the subfamily Dacinae. Red arrows and frames indicate the morphological types for this subfamily (Thompson 1998).

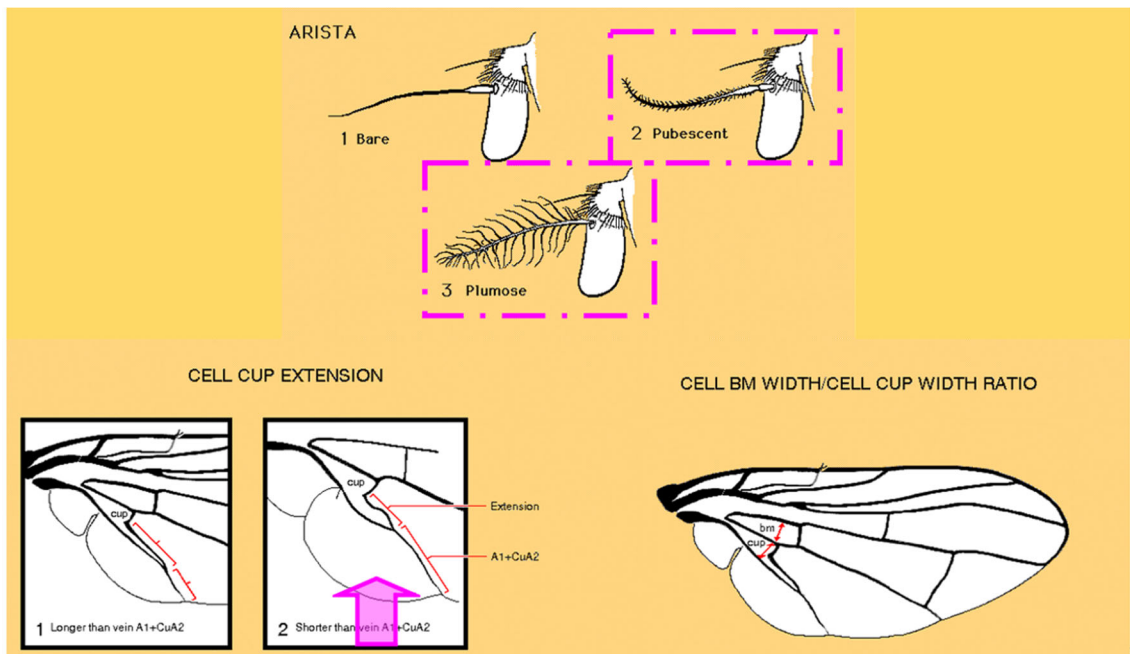


圖 7、蠟實蠅族（原蠟實蠅亞科）特徵。紅色箭頭及線框所標示為此亞科之形態類型(Thompson 1998)。

Fig. 7. Diagnostic characters for the tribe Ceratitidini (previously Ceratitidinae). Red arrows and frames indicate the morphological types for this subfamily (Thompson 1998).

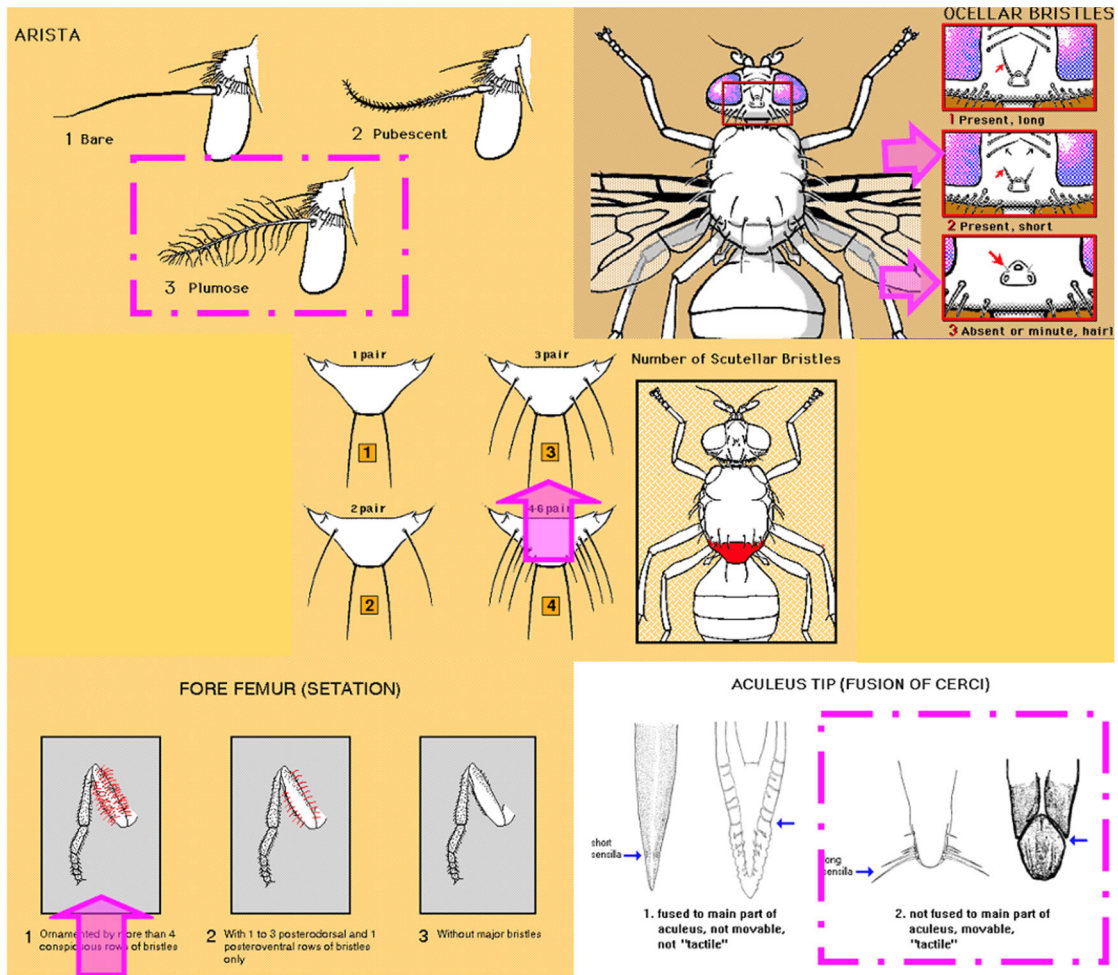


圖 8、菲實蠅亞科特徵。紅色箭頭及線框所標示為此亞科之形態類型(Thompson 1998)。

Fig. 8. Diagnostic characters for the subfamily Phytalmiinae. Red arrows and frames indicate the morphological types for this subfamily (Thompson 1998).

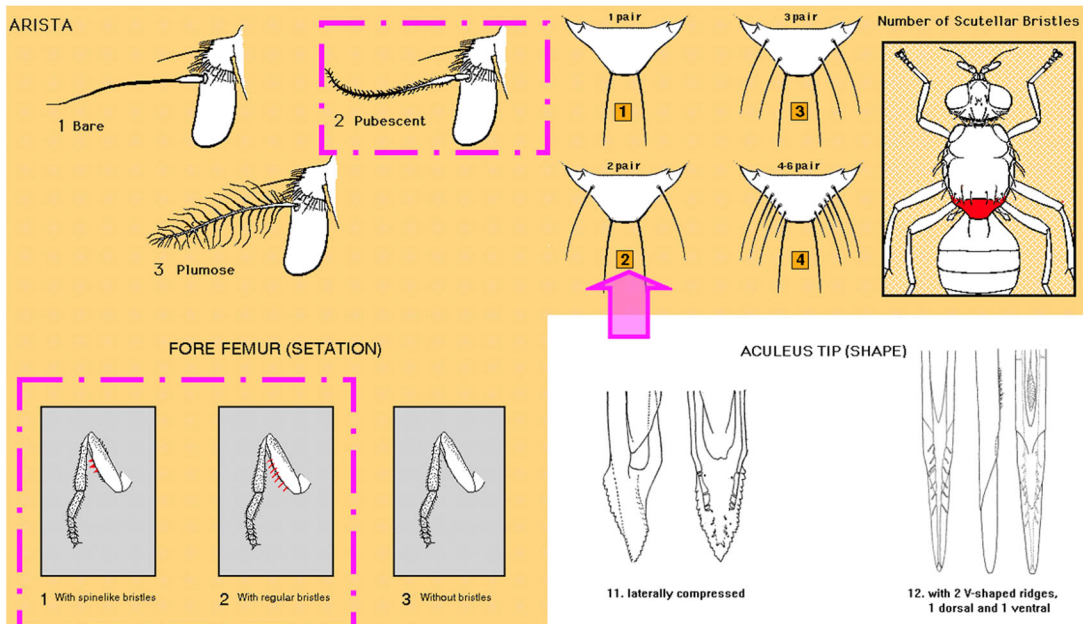


圖 9、紋翅實蠅亞科特徵。紅色箭頭及線框所標示為此亞科之形態類型(Thompson 1998)。

Fig. 9. Diagnostic characters for the subfamily Trypetinae. Red arrows and frames indicate the morphological types for this subfamily (Thompson 1998).

具經濟重要性果實蠅的鑑定

一、具經濟重要性的果實蠅

根據 Smith 等人(1997)所編寫的歐洲檢疫害蟲名錄中，所列名的果實蠅有 29 種分屬

於 *Anastrepha*、*Bactrocera*、*Ceratitis*、*Dacus*、*Rhagoletis* 等 5 屬 (表 1)，而具經濟重要性的果實蠅幾乎都是屬於這五屬的種類，但並沒有哪一屬是世界性分布的屬(表 2) 以下就以這 5 屬做一簡單介紹：

表 1、歐洲列為檢疫害蟲的果實蠅 (Smith *et al.* 1997) (註：*Bactrocera* 下包含目前歸類於 *Zeugodacus* 屬之種類)

Table 1. Quarantine tephritid fruit fly species of Europe (Smith *et al.* 1997)

Genus	Species	Genus	Species
<i>Anastrepha</i>	<i>fraterculus</i>	<i>Ceratitis</i>	<i>capitata</i>
	<i>ludens</i>		<i>cosyra</i>
	<i>obliqua</i>		<i>quinaria</i>
	<i>suspensa</i>		<i>rosa</i>
<i>Bactrocera</i>	<i>carambolae</i>	<i>Dacus</i>	<i>ciliatus</i>
	<i>caryae</i>	<i>Rhagoletis</i>	<i>cingulata</i>
	<i>cucumis</i>		<i>completa</i>
	<i>cucurbitae</i>		<i>fausta</i>
	<i>dorsalis</i>		<i>mendax</i>
	<i>kandiensis</i>		<i>pomonella</i>
	<i>minax</i>		<i>ribico</i>
	<i>occipitalis</i>		
	<i>papayae</i>		
	<i>philippinensis</i>		
	<i>pyrifoliae</i>		
	<i>tryoni</i>		
	<i>tsuneonis</i>		
	<i>zonata</i>		

表 2、具經濟重要性的 5 屬果實蠅害蟲種類在各大洲的分布(改自 Qin *et al.* 2015) (註: *Bactrocera* 下包含目前歸類於 *Zeugodacus* 屬之種類)

Table 2. The geographic distribution of pest species of economic significance in 5 tephritid genera (modified from Qin *et al.* 2015)

	Asia	Africa	N. America	S. America	Europe	Oceania
<i>Anastrepha</i>	0	0	26	36	0	0
<i>Bactrocera</i>	33	5	5	0	1	25
<i>Ceratitis</i>	2	12	1	1	1	1
<i>Dacus</i>	8	14	0	0	0	3
<i>Rhagoletis</i>	2	0	15	6	4	0

(一) *Bactrocera* spp. 和 *Dacus* spp. 這兩屬同為寡毛實蠅亞科種類，具有典型的寡毛實蠅亞科的特徵；cup 室末端突出，成狹長型（圖 12）；觸角第三節長約為寬的 3 倍（圖 11）（註： *Bactrocera* 下包含目前歸類於 *Zeugodacus* 屬之種類）。常見如 *B. dorsalis*（東方果實蠅）。（圖 10A）

(二) *Anastrepha* spp. 具有紋翅實蠅亞科的特徵；通常翅上的中脈在連接到翅緣時會向下彎曲（圖 11）。著名的如 *A. fraterculus*（南美果實蠅）（圖 10B）

(三) *Rhagoletis* spp. 屬於紋翅實蠅亞科；cup 室的突起不發達（圖 12），或缺如；翅的基部各室無點狀或網狀的複雜斑紋，翅的斑紋通常成箭頭狀。常見有 *R. pomonella*（蘋果實蠅）（圖 10C）

(四) *Ceratitis* spp. 屬於寡毛實蠅亞科蠟實蠅族；cup 室末端突出，但較為短且寬（圖 12）；翅的基部各室具有點狀或網狀的複雜斑紋。常見如 *C. capitata*（地中海果實蠅）（圖 10D）。

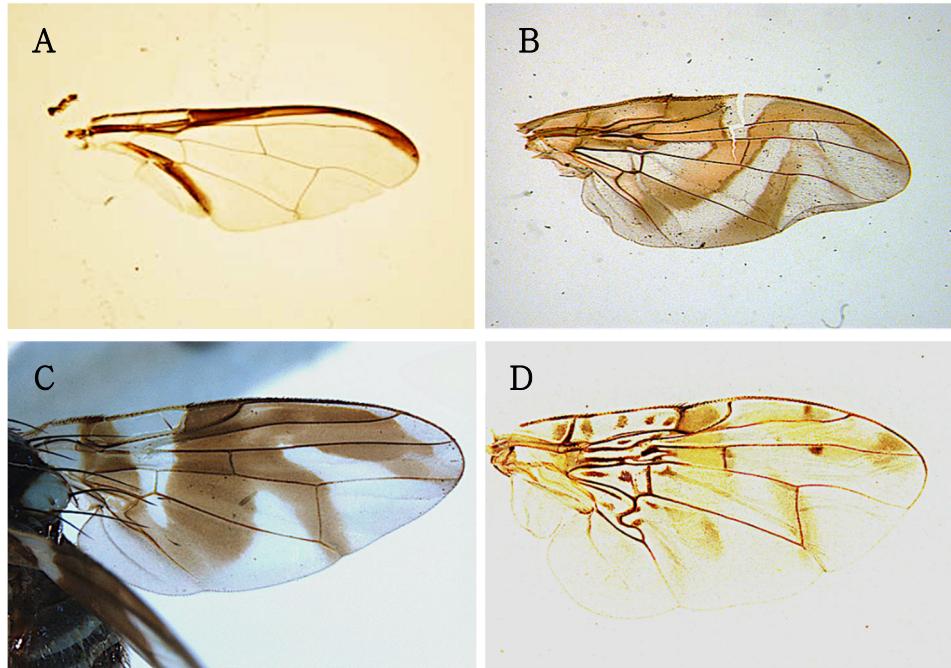


圖 10 果實蠅之翅的圖版。A · 東方果實蠅；B · 南美果實蠅；C · 蘋果實蠅；D · 地中海果實蠅。
Fig. 10. Wing of tephritid fruit flies. A, *Bactrocera dorsalis*; B, *Anastrepha fraterculus*; C, *Ragoletis pomonella*; D, *Ceratitidis capitata*.

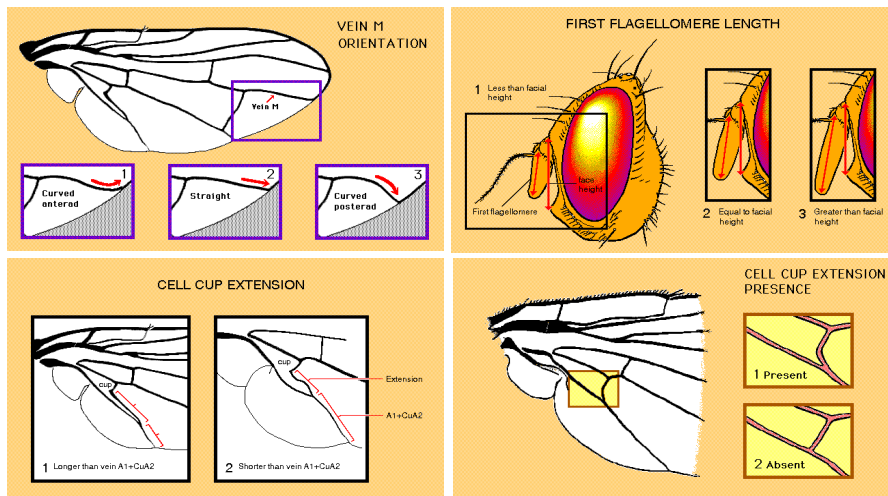
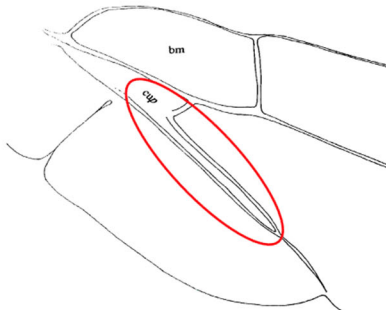


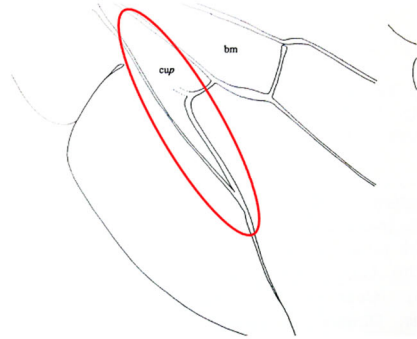
圖 11、具經濟重要性果實蠅鑑別特徵(Thompson 1998)。

Fig. 11. Diagnostic characters for fruit flies of economic significance (Thompson 1998).

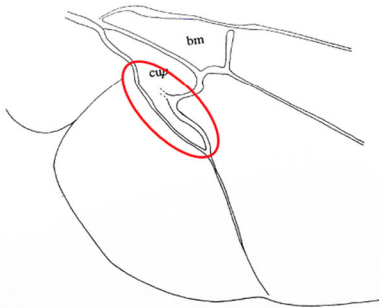
Cup cell in different tephritid genera



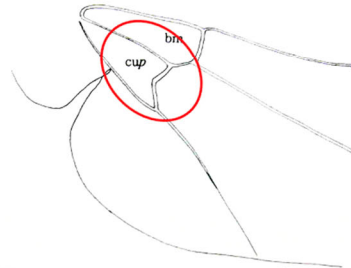
Bactrocera and *Dacus*



Anastrepha



Ceratitis



Rhagoletis

圖 12、肘臀室(cup)翅室在 5 個主要果實蠅害蟲屬級的形態差異 (White & Elson-Harris 1992)。

Fig. 12. Different shapes of cup cell in 5 major tephritid pest genera (White & Elson-Harris 1992).

寡毛實蠅亞科之分類及鑑定

寡毛實蠅亞科中包含亞太地區大多數的重要農業害蟲。本亞科下分為三個族，分別為蠟實蠅族(Ceratitidini)、腹帶實蠅族

(Gastrozonini)及寡毛實蠅族(Dacini)。其中蠟實蠅族包含世界重要檢疫果實蠅種類地中海果實蠅(*Ceratitis capitata*)，而目前在台灣僅記錄 1 屬 1 種，為 Shiraki (1933) 所發表之小黑山紋實蠅 (*Paratirithrum nitobei*)；

腹帶實蠅族目前之研究尚不盡完善，臺灣已記錄 10 屬 16 種，部分已知生活史之物種幼蟲以竹亞科 (Bambusoideae) 之幼嫩植株為食；台灣產寡毛實蠅族包含背寡毛實蠅屬 (*Bactrocera*) (已紀錄 13 種) (Huang & Shiao 2021)、長角實蠅屬 (*Dacus*) (已紀錄 4 種) 與如寡毛實蠅屬 (*Zeugodacus*) (已紀錄 14 種) (Shiao 2019)，而亞太地區主要的果實害蟲均屬於上述三屬。

寡毛實蠅族下的三個屬，分別為背寡毛實蠅屬、長角實蠅屬、如寡毛實蠅屬。長角實蠅屬 (*Dacus*) 成員多為翅長 1 公分以上的大型物種；小楯板基部至端部之長度為基部之寬度的約 3 倍；腹部背板癒合，多數物種腹部前半部收窄形似蜂。背寡毛實蠅屬 (*Bactrocera*) 與如寡毛實蠅屬 (*Zeugodacus*) 腹部背板未癒合；腹部通常為橢圓形；小楯板基部至端部之長度為基部之寬度的約 2.5 倍；上膊剛毛無；翅基前剛毛有；小楯板前剛毛有(少部分物種無)；腹部第三背板兩側具梳狀剛毛。其中背寡毛實蠅屬小楯板剛毛 1 對；雄性腹部第五腹板明顯內凹，後尾突葉短。如寡毛實蠅屬小楯板剛毛 1 至 2 對；雄性腹部第五腹板微內凹，後尾突葉長。

寡毛實蠅族近年來較大的變動是關於如寡毛實蠅屬(*Zeugodacus*) 的獨立：如寡毛實蠅(*Zeugodacus*) 過去曾被置於長角實蠅屬(*Dacus*) 及背寡毛實蠅(*Bactrocera*) 屬之下的亞屬，然而後來的研究指出，

Zeugodacus 與 *Bactrocera* 及 *Dacus* 事實上具有不同的演化歷史 (Krosch *et al.*, 2012; Virgilio *et al.* 2015)，分子證據更支持了 *Zeugodacus* 與 *Dacus* 具最近共祖，反而與 *Bactrocera* 之親緣關係較遠，因此被從最近的 *Bactrocera* 下的一個亞屬中獨立出來 (Krosch *et al.* 2012; Virgilio *et al.* 2015; San Jose *et al.* 2018; Dupuis *et al.* 2017)。寡毛實蠅亞科(Dacinae)在亞太地區是果實蠅中多樣性最高的一群，物種數遠多於分布於其他地理區，其中寡毛實蠅族的物種數有接近八成左右是分布在亞太地區(整個族約 932 種中的 730 種 (Dooreenweerd *et al.* 2018))。Drew & Romig (2013) 在 Tropical fruit flies (Tephritidae: Dacinae) of South-East Asia: Indomalaya to North-West Australasia 專書中涵蓋多數已記錄種類，是目前最為完整的分類文獻。Dooreenweerd *et al.* (2018) 在全球寡毛實蠅族物種名錄中重新整理名列 932 個物種，為目前最為完整的物種名錄。

而寡毛實蠅亞科下各族多以毛列及翅脈為主要區別特徵，種級分類則強烈依賴細微之色斑差異，如臉斑、背板、腹板斑紋及翅斑等，傳統上以繪圖方式呈現 (Drew & Romig 2013)，近年來許多學者、博物館或防檢疫相關單位開始著手建置影像資料庫，高解析的分類特徵圖譜對於以外斑紋鑑定種類的果實蠅有極大的助益 (<https://www.padil.gov.au/>; <https://www.>

ipmimages.org/; Plant Health Australia (2018))。2014 年一份整合多位作者的研究報告，首次提出了對數個重要果實蠅害蟲的同物異名提出建議 (Schutze *et al.* 2014) 。此文中以形態學、分子遺傳學、細胞學、化學生態學、交配相容性等各方面探討並處理包括木瓜果實蠅 *Bactrocera papayae* Drew & Hancock、菲律賓果實蠅 *Bactrocera philippinensis* Drew & Hancock、楊桃果實蠅 *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock 及入侵果實蠅 *Bactrocera invadens* Drew, Tsuruta & White 等重要寡毛實蠅害蟲物種，結論為將除楊桃果實蠅外的數個種類歸為東方果實蠅之同物異名。此研究挑戰了原先以 Drew 等學者建立以外部斑紋鑑種的穩定性。而本實驗室未發表資料中亦顯示斑紋分類特徵在種內的變異性(Wei 2012)。

寡毛實蠅族(Dacini)分類鑑定要領

一、翅斑 (圖 13)：

翅斑是寡毛實蠅最為容易辨識的外部特徵，大部分的種類都僅有前緣脈斑(costal band)及臀脈斑(Anal streak)，少數種類在其間會出現二到三段翅斑或更大範圍的著色區域。其他非本亞科的種類通常翅斑會較為複雜如紋翅與斑翅等，可以作為一個初步的判

斷依據。通常翅上出現前緣脈斑及臀脈斑之外的斑紋除如寡毛實蠅如瓜實蠅 (*Zeugodacus cucurbitae*) (圖 13F) 之外，較少有農業害蟲種類 (如波羅蜜果實蠅 (*B. umbrosa* 為其中之一) 的害蟲) (圖 13D) 有此特徵。在寡毛實蠅族之中，首先以前緣脈斑可先大致區分為：

- (1) 前緣脈斑連續完整，以東方果實蠅種群 (*B. dosalis* complex) 為代表 (圖 13A)，前緣脈斑前端不超過 R_{2+3} ，後半段位於 R_{2+3} 與 R_{4+5} 之間稍微膨大，並終止於微超過 R_{4+5} 處。
- (2) 前緣脈斑間斷不完整，以桃果實蠅 (*B. zonata*) (圖 13B) 及番石榴果實蠅 (*B. correcta*) 為代表。
- (3) 前緣脈斑區域有無超越或覆蓋 R_{2+3} ，如楊桃果實蠅 (*B. carambola*) 及後顛背寡毛實蠅 (*B. occipitalis*) 之前緣脈斑紋區域即微超過 R_{2+3} 。
- (4) 前緣脈斑末端 (於 R_{4+5} 脈附近及翅尖) 有無明顯膨大，有膨大者如茄實蠅 (*B. latifrons*) (圖 13C)。

其次為臀脈斑：臀脈斑通常種間差異不大，主要以末端有無膨大色斑來判斷，除此之外在如寡毛實蠅 (*Zeugodacus*) 種類雄蟲的附翅瓣 (supernumerary lobe) 的形狀也是一個判別特徵依據。

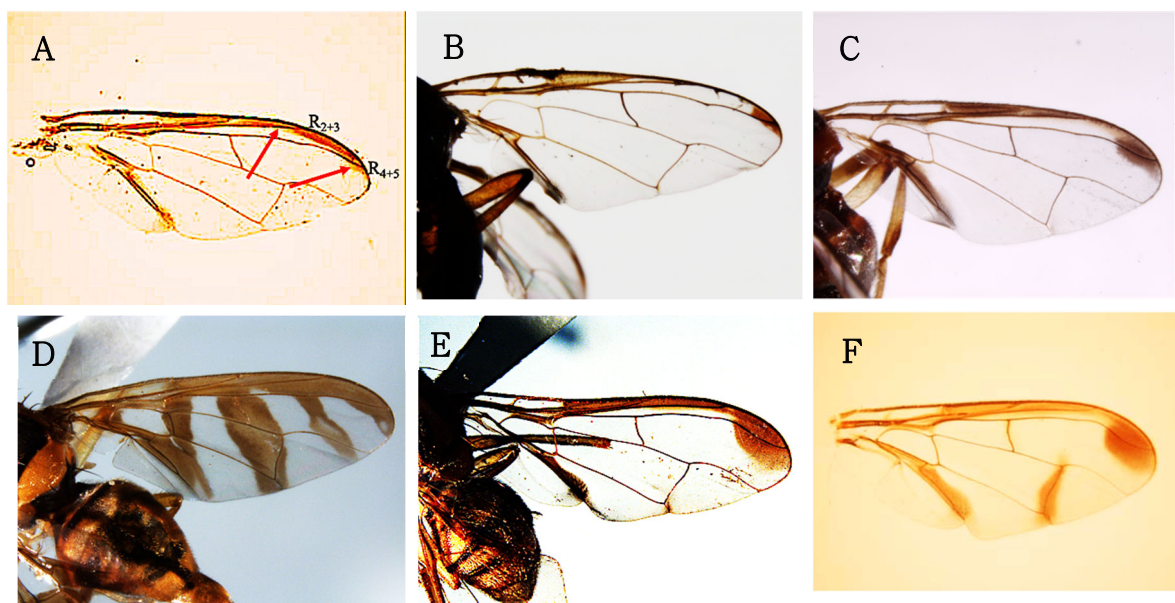


圖 13、寡毛實蠅族主要種類翅斑。A．東方果實蠅; B．桃果實蠅; C．茄實蠅; D．波羅蜜果實蠅; E．南瓜實蠅; F．瓜實蠅。

Fig. 13. Wing color pattern in Dacini species. A, *Bactrocera dorsalis*; B, *B. zonata*; C, *B. latifrons*; D, *B. umbrosa*; E, *Zeugodacus tau*; F, *Z. cucurbitae*.

二、胸部背板色斑 (圖 14)

主要色斑出現在後前胸瓣色斑(postpronotal lobe)、側縫後色斑(lateral post-sutural vitta)及中縫後色斑(medial post-sutural vitta) (圖 2)。

(1) 側縫後色斑是寡毛實蠅物種鑑定上最常使用的特徵之一，其重點在於：色斑的寬或細、兩側色斑相對內側的平行或彎曲、色斑的形狀及長度（如前寬厚窄及延伸的長度及是否及於翅基內剛毛(ia, intra-alar seta)等）(圖 2)。如東方果實蠅

的側縫後色斑屬於中等寬度、相對平行、前後粗細一致並延伸至 ia (圖 14A)。而同為東方果實蠅種群的斯里蘭卡果實蠅(*B. kandiensis*) (圖 14B) 和印度果實蠅(*B. caryeae*)的側縫後色斑則明顯較細且不平行，且通常長度未延伸至 ia 或僅達 ia 邊緣。至於像台灣與菲律賓呂宋島有紀錄的非害蟲種類擬東方果實蠅(*B. dorsaloidea*)則具有較為短且後側變細的側縫後色斑。

(2) 中縫後色斑是一條非常明顯位於胸部背板正中央的特徵，出現在大部分如寡毛實蠅(*Zeugodacus*)的種類上。雖然中縫後色斑有一些長度與寬度的差異，但其分類應用倒通常不是在於色斑本身，而是以其色斑旁邊背景的颜色來區別。如瓜實蠅(*Z. cucurbitae*)其中縫後色斑的

背景著色通常較淺(圖 14C)，而南瓜實蠅(*B. tau*) (圖 14E) 和巨斑實蠅(*Z. synnephes*)的背景黑色斑面積顯然較為廣泛(圖 14F)，至於台灣有紀錄的黑楯板實蠅(*Z. scutellatus*)背板顏色則幾乎為全黑(圖 14D)。

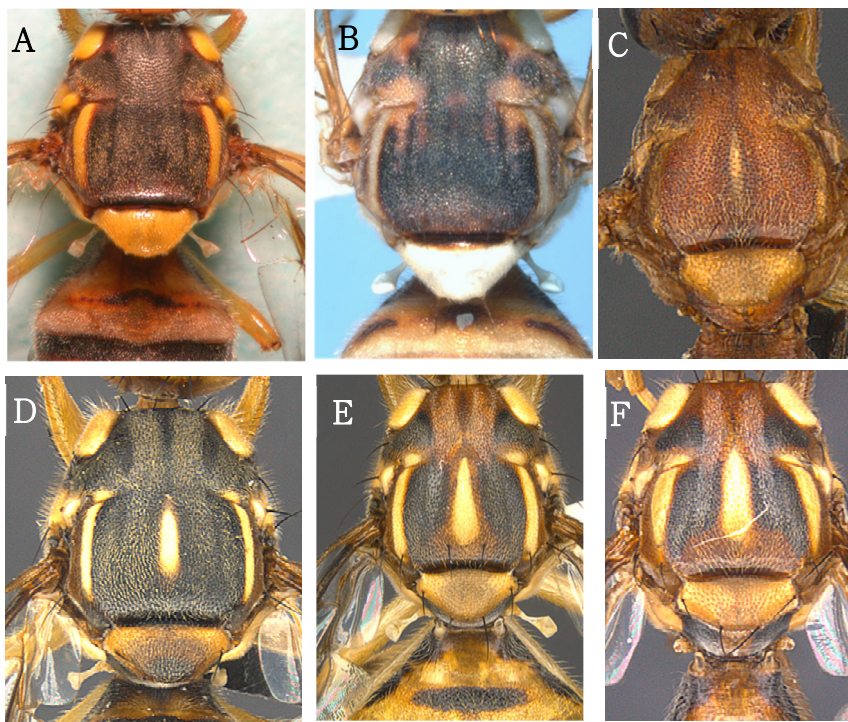


圖 14、寡毛實蠅種類胸背板色斑。A·東方果實蠅; B·斯里蘭卡果實蠅; C·瓜實蠅; D·黑楯板實蠅; E·南瓜實蠅; F·巨斑實蠅。

Fig. 14. Dorsal thoracic color patterns of Dacnidae species. A, *Bactrocera dorsalis*; B, *B. kandiensis*; C, *Zeugodacus cucurbitae*; D, *Z. scutellatus*; E, *Z. tau*; F, *Z. synnephes*.

三、腹部背板色斑 (圖 15)

在可見腹節的 5 節背板上，常出現各種不同形式的黑色著色斑紋，是一個常使用的形態辨識特徵。可以區分成以下幾個不同的差異顯示：

- (1) 從第 3 節開始位於腹背板正中央的縱走斑紋，其粗細及延伸的長度是判斷種類的依據之一。其與第 3 節前緣黑斑所形成的 T 字型斑紋是多數寡毛實蠅都有的特徵。如斯里蘭卡果實蠅(*B. kandiensis*)的中縱斑紋(medial longitudinal dark band)有較細的寬度 (圖 15D)，而楊桃果實蠅(*B. carambolae*)及後顛背寡毛實蠅(*B. occipitalis*)的中縱斑紋則明顯較粗 (圖 15E)。
- (2) 第 3、4 及 5 腹節背板的兩側邊緣黑斑(lateral dark marking)，從全黑、部分邊緣黑化到完全缺如的皆有。如香蕉果實蠅(*B. musae*)幾乎不見斑紋，而波羅

蜜果實蠅 (*B. umbrosa*) 3-5 節腹背板僅有淡棕色著色的邊緣斑紋(圖 15C)，至於東方果實蠅雖有深黑的邊緣斑紋但一般所佔範圍較窄 (圖 15B)，梨果實蠅(*B. pyrifoliae*)邊緣斑則明顯較大、而斐濟果實蠅(*B. passiflorae*)則腹部背板幾為全黑，也不見中縱斑紋 (圖 15F)。

四、前中後足色斑 (圖 16)

足の色斑鑑別特徵以腿節的變化最多，也最常被使用，而腿節中又以前足腿節の色斑變異最大。常出現的形式有無色斑、腿節末短有深色著色或深色斑點等。斯里蘭卡果實蠅(*B. kandiensis*)的前、中、後足腿節皆有明顯黑色區塊斑紋，而印度果實蠅(*B. caryae*)則是位於各腿節內側有長型黑斑(圖 16B)，而梨果實蠅(*B. pyrifoliae*)則是前足腿節具一點狀黑斑，至於一般東方果實蠅的典型個體則通常前、中、後足腿節皆不具黑斑。

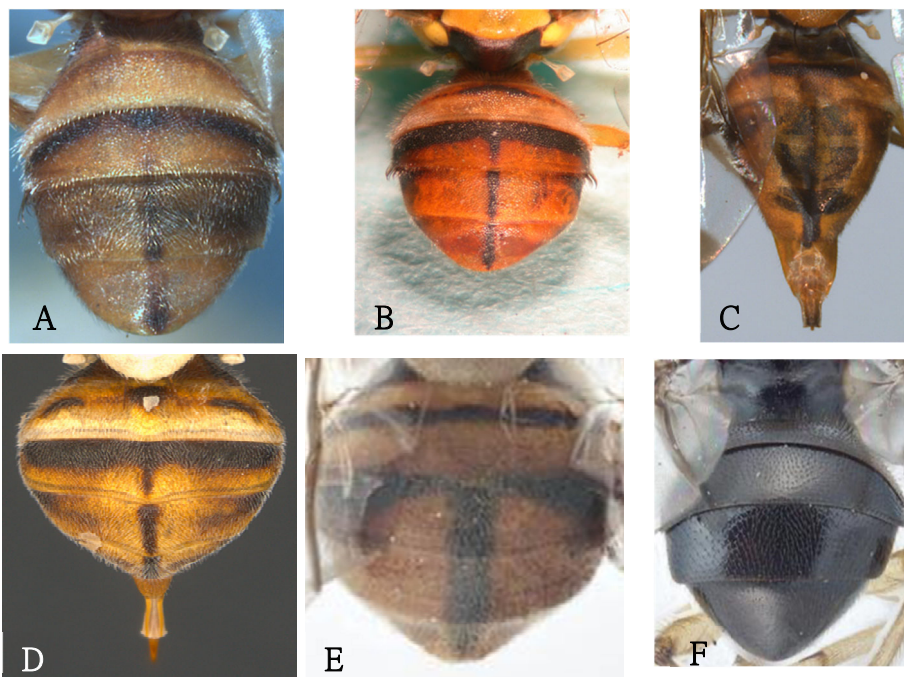


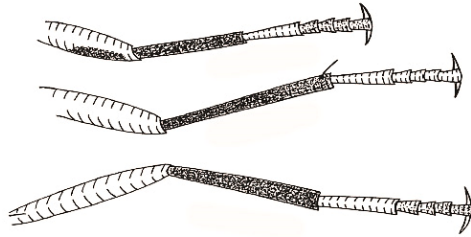
圖 15、寡毛實蠅種類腹部背板色斑。A・瓜實蠅; B・東方果實蠅; C・波羅蜜果實蠅; D・斯里蘭卡果實蠅; E・後顛背寡毛實蠅; F・斐濟果實蠅。(E, F 取自 <https://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet/>)

Fig. 15. Abdominal color patterns on Dacini species. A, *Zeugodacus cucurbitae*; B, *Bactrocera dorsalis*; C, *B. umbrosa*; D, *B. kandiensis*; E, *B. occipitalis*; F, *B. passiflorae*.

(E, F from <https://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet/>)

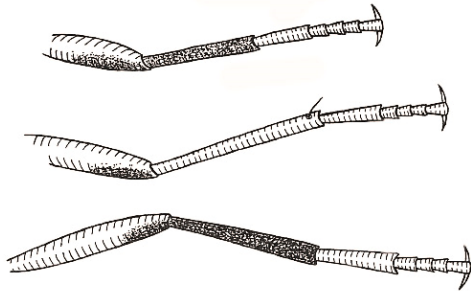
6(4) Legs with a dark spot on outer apical surfaces of fore femora only 7

A



Legs with dark patterns on apices of all femora or, at least, on fore and hind femora 8

B



C

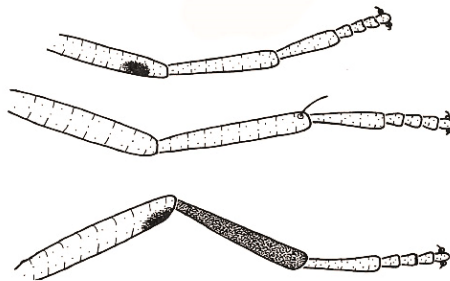


圖 16、寡毛實蠅族種類足斑紋形式範例。A，僅前足腿節外側具斑點；B，前中後足腿節端部均具斑點，但僅前、後足脛節黑色（如斯里蘭卡果實蠅及印度果實蠅）；C，前、後足腿節端部具斑點，但僅後足脛節為黑色（Drew & Romig 2016）。

Fig. 16. Leg color patterns in *Dacini* species. A, only outer side of fore-femora with an apical black spot; B, all femora with apical black spots, but only fore- and hind-tibiae black (e.g. *B. kandiensis* and *B. caryeae*); C, fore- and hind-femora with apical spots, but only hind-tibiae black (Drew & Romig 2016).

五、臉斑 (圖 17)

臉斑位於半月瘤區(lunule)觸角著生部位側下方，是一個容易找到的明顯特徵，從完全缺如到點狀斑紋甚至整區黑色著色者皆有。比較常被提及在分種鑑別用途上的是點狀斑紋的形狀差異。例如同屬翅前緣脈斑連接不完整的桃果實蠅與番石榴果實蠅的臉斑區別，

其中桃果實蠅的小型臉斑是點狀分離的 (圖 17E)，而番石榴果實蠅的臉斑則通常會形成左右延長的長型臉斑，甚至兩個臉斑會相連呈線型 (圖 17A、B)。斯里蘭卡果實蠅臉斑一般呈較大橢圓形 (圖 17C、D)，而昆士蘭果實蠅 (圖 17F) 及東方果實蠅則一般形成圓形到橢圓形的中型臉斑。

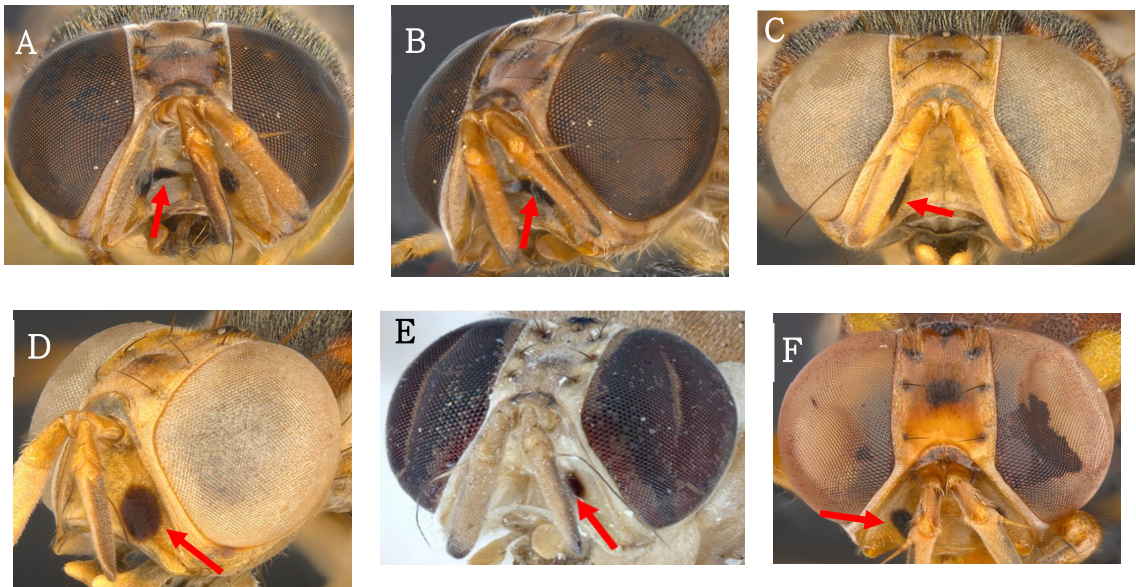


圖 17、寡毛實蠅種類臉斑型式。A，番石榴果實蠅，正面觀；B，番石榴果實蠅，側面觀；C，斯里蘭卡果實蠅，正面觀；D，斯里蘭卡果實蠅，側面觀；E，桃果實蠅 (<https://www.padil.gov.au/pests-and-diseases/pest/main/136212/265>)；F，昆士蘭果實蠅。

Fig. 17. Facial spots on Dacini species. A, *B. correcta*, frontal view; B, *B. correcta*, lateral view; C, *B. kandiensis*, frontal view; D, *B. kandiensis*, lateral view; E, *B. zonata* (<https://www.padil.gov.au/pests-and-diseases/pest/main/136212/265>); F, *B. tryoni*.

結語

果實蠅形態分類在針對兩亞科內 6 個屬的害蟲種類區辨上，除在寡毛實蠅類群上因為形態相近較難區分之外，其餘大多可輕易以外部特徵準確判別。寡毛實蠅族的種類在亞太地區具有絕對優勢的物種多樣性，其物種鑑別依 Drew & Romig (2016) 的整理，主要為前述的幾類特徵，著重在色斑的應用，比較複雜的問題來自於可能需要同時整合上述幾類特徵加以綜合判斷，使得這類以形態為主的鑑別系統強烈依賴各部位整合的分類圖譜如繪圖或影像來輔助。此外因為標本保存狀態不佳所導致的蟲體變色，會嚴重影響標本鑑定的可信度，特別是對於一些較為不常見且形態相近容易混淆的物種。

澳洲 Plant Health Australia 自 2011 年起開始出版一套果實蠅鑑定手冊(The Australian Handbook for the Identification of Fruit Flies)，目前已發行到了第 3.1 版。此套手冊主要是遵循 Dick Drew 教授的果實蠅分類系統建置，目的是健全整個澳洲果實蠅檢防疫網絡體系中果實蠅物種診斷鑑定的需求，對象是提供第一線診斷鑑定工作人員訓練及平時應用之參考。每個版本都有建立不同的簡易分類系統，主要針對該地區常見的本土及外來害蟲種類。此種針對主要害蟲所建立的特殊且快速的形態分群方式，非常有效率且值得效法。例如先以明顯的胸背板斑紋區分成 2 個色斑型(2-vitta type; lateral

post-sutural vitta)、3 個色斑型(3-vitta type; lateral post-sutural vitta + medial post-sutural vitta)、無色斑型(Zero-vitta type)及各翅斑翅紋型，各型旗下再以體色、前緣脈斑等再行區分。以這種特殊的分群方式佐以清楚圖片形成一套自成一格的圖索鑑定系統，可以方便應用於一般鑑定的實務需求。

而過去其實也不乏對於果實蠅鑑定技術的開發：例如有些學者會將同屬或同一類的果實蠅整理，附上檢索表，例如：Drew 和 Hancock (1994) 所發表的亞洲地區果實蠅的東方果實蠅種群、汪(1996)描述東亞地區的果實蠅，曾及張(1997)發表世界檢疫重要性果實蠅彩色圖鑑以及曾及張(1998)敘述寡毛實蠅亞科之地理分布及 26 種在植物檢疫上的重要種類。一般形態鑑定主要根據學者所描述的形態特徵，經過比對後，辨別出是哪一種果實蠅，通常在發表的文獻中都只有幾種的果實蠅，但是這種方式是經由專家所訂定出來的，但是若給一般非專業人士使用，常常會有很大的困難，因此將各種果實蠅的照片集成圖鑑的方式，適合給一般非專業的使用者進行比對。另外，將傳統檢索表及圖片結合成圖索表是另一種方式，可以提供比圖片更精確的比對，但又不會有傳統檢索表使用上的困難。近年來電腦科技的發展得相當迅速，因此，亦可以利用電腦來做影像的判別，用來做為鑑定的方法，例如 Dietrich 和 Pooley 在 1994 年開發出 ALIS，用來檢測浮塵子，即是利用電腦來做影像的辨識。果實蠅

的身上具有許多的特殊的紋路、斑點，例如胸部背板、翅等，所形成的特異性圖譜，利用這種方式開發出電腦影像的辨識系統應有極大的潛力。

誌謝

本文內容承行政院農業委員會動植物防疫檢疫局計畫補助支持 (110 農科-5.3.3-檢-B1(2)、111 農科-5.3.3-檢-B1(2))，謹此致謝。

參考文獻

中華昆蟲學會。1994。昆蟲綱科以上學名中名對照表。中華昆蟲學會特刊第九號。40 頁。

汪興鑒。1996。東亞地區雙翅目實蠅科昆蟲。動物分類學(21)。419 頁。

張弘毅。2001。台灣中北部竹林中活動的果實之種類多樣性及其季節變動 (雙翅目：果實蠅科)。國立台灣大學植物病蟲害學研究所博士論文。362 頁。

曾義雄、張弘毅。1997。世界檢疫重要果實蠅彩色圖鑑。經濟部商品檢驗局新竹分局，新竹市。155頁。

曾義雄、張弘毅。1998。寡毛果實蠅亞科之地理分布及在植物檢疫上之重要性種類敘述。台灣果實蠅防治技術研討會專刊：70-129。

曾義雄、林自新、楊振德、余秀玲、朱耀沂。

1973。台灣果實蠅科之種類調查。經濟部商品檢驗局印。18 頁。

Bezzi, M. 1913. Indian trypaneids (fruit flies) in the collection of Indian museum, Calcutta. Mem. Indian Mus. 3: 53 – 175.

Dietrich, C. H., and C. D. Pooley. 1994. Automated identification of leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae: *Draeculacephala* Ball). Ann. Entomol. Soc. Am. 87: 412-423.

Doorendeerd, C., L. Leblanc, A. L. Norrbom, M. S. Jose, and D. Rubinoff. 2018. A global checklist of the 932 fruit fly species in the tribe Dacini (Diptera, Tephritidae). ZooKeys 730: 19-56.

Dowell, R. V. and L. K. Wange. 1986. Process analysis and failure avoidance in fruit fly programs. pp. 43-65. *in*: Pest control. (Mangel, M., J. R. Carey, and R. E. Plant, eds.) NATO ASI Series, Springer-Verlag, New York.

Drew, R. A. I. and D. L. Hancock. 1994. The *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Asia. CABI Bull. Entomol. Res. 2.

Drew, R. A. I. and M. C. Romig. 2013.

- Tropical Fruit Flies (Tephritidae: Dacinae) of South-East Asia: Indomalay to North-west Australasia. CAB International, Wallingford. 655 pp.
- Drew, R. A. I. and M. C. Romig. 2016.** Keys to the tropical fruit flies of South-East Asia. CABI Publishing, Oxfordshire.
- Dupuis, J. R., F. T. Bremer, A. Kauwe, M. San Jose, L. Leblanc, D. Rubinoff, and S. Geib. 2017.** HiMAP: Robust phylogenomics from highly multiplexed amplicon sequencing. bioRxiv. <http://bi.orxiv.org/content/early/2017/11/05/213454.abstract>.
- Enderlein, G. 1911.** Trypetiden-studien. Zool. Jahrb. Abt. Syst. Geogr. Biol. Tiere. 31: 407 – 460.
- FAO. 1986.** Report of the expert consultation on progress and problems in controlling fruit fly infestation, Bangkok, 1986. RAPA Publication, 1986(28), 1-18. Food and Agriculture Organization, Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok.
- Hardy, D. E. 1973.** The fruit flies (Tephritidae-Diptera) of Thailand and bordering countries. Pac. Insects Monogr. 31: 1 – 353.
- Hardy, D. E. 1974.** The fruit flies of the Philippines (Diptera: Tephritidae). Pac. Insects Monogr. 32: 1 – 266.
- Hendel, F. G. 1927.** 49. Trypetidae. pp. 1 – 221. *in*: Die Fliegen der Palaearktischen Region 5 (1) (Linder E., ed.), Stuttgart.
- Hering, E. M. 1947.** Neue Gattungen und Arten der Fruchtfliegen. Siura Seva 6: 1 – 16.
- Huang, C. Y. and S. F. Shiao. 2021.** Checklist of Species of *Bactrocera* (Diptera: Tephritidae) in Taiwan. Formos. Entomol. 41: 147 – 157.
- Korneyev, V. A. 1999.** Phylogenetic relationships among higher groups of Tephritidae. pp. 73 – 113. *in*: Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior. (Aluja M. and A. L. Norrbom, eds.) CRC Press, New York, Washington D.C.
- Krosch, M. N., M. K. Schutze, K. F. Armstrong, G. C. Graham, D. K. Yeates, and A. R. Clarke. 2012.** A molecular phylogeny for the Tribe Dacini (Diptera: Tephritidae): Systematic and biogeographic implications. Mol. Phylogenet. Evol.

64: 513 – 523.

Munro, H. K. 1935. Observations and comments on the Trypetidae (Dipt.) of Formosa, Arbeiten uber Physiologische und Angewandte Entomologie aus Berlin-Dahlem, 2, 195-203, 253-271.

Qin, Y., D. R. Paini, C. Wang, Y. Fang, and Z. Li. 2015. Global establishment risk of economically important fruit fly species (Tephritidae). PLoS ONE 10: e0116424.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116424>

San Jose, M., C. Doorenweerd, L. Leblanc, N. Barr, S. M. Geib, and D. Rubinoff. 2018. Incongruence between molecules and morphology: A seven-gene phylogeny of Dacini fruit flies paves the way for reclassification (Diptera: Tephritidae). Mol. Phylogenet. Evol. 121: 139 – 149.

Schutze, M. K., N. Aketarawong, W. Amornsak, K. F. Armstrong, A. A. Augustino, N. Barr, W. Bo, K. Bourtzis, L. M. Boykin, C. Caceres, S. L. Cameron, T. A. Chapman, S. Cjinvinijkul, A. Chomic, M. D. Meyer, E. Drosopoulou, A. Englezou, S.

Ekesi, A. Gariou-Papalexiou, S. M. Geib, D. Hailstones, M. Hasanuzzaman, D. Haymer, A. K. W. Hee, J. Hendrich, A. Jessup, Q. Ji, F. M. Khamis, M. N. Krosch, L. Leblanc, K. Mahmood, A. R. Malacrida, P. Mavragani-Tsipidou, M. Mwatawala, R. Nishida, H. Ono, J. Reyes, D. Rubinoff, M. Sanjose, T. E. Shelly, S. Srikachar, K. H. Tan, S. Thanaphum, I. Haq, S. Vijaysegaran, S. L. Wee, F. Yesmin, A. Zacharopoulou, and A. R. Clarke. 2014. Synonymization of key pest species within the *Bactrocera dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae): taxonomic changes based on a review of 20 years of integrative morphological, molecular, cytogenetic, behavioural and chemoecological data. Syst. Entomol. 40: 456 – 471.

Shiao, S. F. 2019. Species Checklist of *Zeugodacus* (Diptera: Tephritidae: Dacini) in Taiwan. Formos. Entomol. 39: 36 – 45.

Shiraki, T. 1933. A systematic study of Trypetidae in the Japanese Empire. Mem. Fac. Sci. Agric. Taihoku Imp. Univ. 8. 509 pp.

- Shiraki, T. 1968.** Fruit flies of Ryukyu Islands. US Natl. Mus. Bull. 236: 1 – 104.
- Smith, I. M., d. G. McNamara, P. R. Scott, M. Holderness, and B. Burger. 1997.** Quarantine Pests for Europe. CAB International. 1402 pp.
- Thompson, F. C. 1998.** Fruit Fly Expert Identification System and Systematic Information Database. North American Dipterists' Society, Backhuys Publishers. 524 pp.
- Virgilio, M, K. Jordaens, C. Verwimp, I. M. White, and M. D. Meyer. 2015.** Higher phylogeny of frugivorous flies (Diptera, Tephritidae, Dacini): Localised partition conflicts and a novel generic classification. Mol. Phylogenet. Evol. 85: 171 – 179.
- Wei, S. T. 2012.** Morphological Polymorphism and Phenotypic Plasticity in *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) of Taiwan, Master' s thesis, National Taiwan University, Taipei.
- White, I. M. and M. M. Elson-Harris. 1992.** Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics. CAB International in association with ACIAR, Wallingford. 601 pp.

Identification of fruit fly species (Diptera: Tephritidae) of plant quarantine and protection significance

Chien-Yu Huang¹, Wei-Huang Tsai², and Shih-Feng Shiao^{1, *}

¹Department of Entomology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

²Council of Agriculture, Executive Yuan, Taipei, Taiwan

Abstract

The family Tephritidae is a large group in the order Diptera, with more than 1,000 genera and about 5,600 species have been recorded and widely distributed all over the world. The fruit fly has a huge impact on the agricultural economy. Its larvae can directly damage the stems, leaves, flowers, fruits and seeds of the plant, especially the damage to the fruit of the plant causes the largest loss of the agricultural economy. Among them, species in 6 genera of *Anastrepha*, *Bactrocera*, *Ceratitis*, *Dacus*, *Ragoletis* and *Zeugodacus* are more economically important. The larvae of the fruit fly can spread to new areas with the import and export of the hosts, and the adults have strong flying ability. Once established in a new area, they will quickly spread and become new economic pests in that area. Important quarantine pests are strictly controlled to stop their spread and prevent agricultural products from being threatened. The most basic method is to use external morphological characteristics as the basis for identification. There are many species of economic importance which live in different geographic regions; however, their external morphological characteristics are very similar and difficult to distinguish. This paper briefly introduces the six major genera of pests in the world for plant quarantine and protection as well as their classification and identification methods; especially focusing on the identification of important Dacinae species distributed in the Asia-Pacific region.

Key words: Taxonomy, Identification, Morphology, Trypetinae, Dacinae

*Corresponding author.

E-mail: sfshiao@ntu.edu.tw

檢防疫重要性果實蠅（雙翅目：果實蠅科）診斷鑑定要領 102

檢疫入侵高風險的農業蟎類

陳文華¹ 張萃嫻^{1,*}

¹國立屏東科技大學植物醫學系。台灣 屏東縣

摘要

蟎蜱是農作物重要的害蟎，其取食直接造成植物傷害，有些種類間接傳播植物病毒病或真菌性及細菌性病害，蟎類由於體形小、生活史短、繁殖力高、對農藥易產生抗藥性等，使化學藥劑防治無法達到有效控制目標。近年來由於貿易增加自國外進口的農產品數量和種類大量增加，致使國外疫病蟲害隨進口農產品輸入我國的機率大增。植物檢疫是透過法令的管制，來預防國外疫病蟲害入侵我國，使其在國內繁殖蔓延，以確保我國農業之生產環境。我國植物檢疫是依據「中華民國植物檢疫限制輸入規定」來執行。其中刺足根蟎、酪梨葉蟎及智利偽葉蟎為我國目前法定植物檢疫害蟎，需加強進口植物檢疫，防止其隨農產品輸入而入侵臺灣，造成更嚴重的農業損害；我國檢疫有害生物清單中蟎類共計有 32 種，如山楂葉蟎及歐洲葉蟎等在國內局部發生，蜜蜂氣管蟎等多種尚未在國內發現但可能隨貨品輸入而傳入之害蟎，應積極強化進口植物及其產品檢疫，防杜其隨農產品入侵國內，確保我國農業生產環境之安全。

關鍵字：檢疫、防疫、害蟎、危害

前言

近五十年來由於農業化學藥劑廣泛大量使用，導致自然生態平衡受到破壞，作物害蟲相也不斷變遷，大型害蟲逐漸減少，小型害蟲卻更為猖獗，使得原屬次要

害蟲種類躍升為主要害蟲，特別是農業上的蟎類 (王 1981)。

農業蟎類主要直接為害作物的芽、嫩莖、葉片、葉鞘、花器、果實、根系、地下器官及加工或儲藏物等，除此之外，許多蟎類還能間接傳播植物病害，蟎類為害

*論文聯繫人

E-mail: tychang@mail.npust.edu.tw

所造成的經濟損失相當大，農業蟎類在作物生產與國民經濟佔有一重要地位，因此農業蟎類的相關研究與防治也日益受到重視。

植物檢疫是植物保護工作中重要的一環，其主要任務是防止病蟲草的入侵，隨著國際貿易擴大與農產品進出口增加，植物檢疫工作已被大多數國家所重視，植物檢疫對象包括對在國內尚未發生或僅在局部地區發生的有害生物，需嚴格預防其蔓延者，另外能隨身攜帶或獨立從外地入侵或國內有擴散的有害生物者，以及能在原來不發生或入侵後對作物造成極大損傷，需特殊防治措施的有害生物(柯與陳 2011)。植物檢疫法規是對植物及其產品的運輸、貿易進行管理與控制的規定，以防制具危險性病蟲草害的擴散為害，採預防勝於治療的原則，防止病蟲草害的入侵與蔓延，確保現有的防治成果，刺足根蟎、酪梨葉蟎及智利偽葉蟎為我國目前法定植物檢疫害蟎，需加強進口植物檢疫，防止其隨種球入侵臺灣，造成更嚴重的農業損害；我國檢疫有害生物清單中包括蟎類 31 種，如山楂葉蟎及歐洲葉蟎等在國內局部發生或蜜蜂氣管蟎尚未在國內發現但可能隨貨品輸入而傳入之害蟎，應積極強化進口植物及其產品檢疫，防杜其隨農產品入侵國內，確保我國農業生產環境之安全(何 1988, 1999, 2003；葉與周 2003)。

2011-2022 年度輸入植物或其產品檢出之有害生物種類統計

依據行政院農業委員會動植物防疫檢疫局建置之植物疫病害蟲偵測鑑定資訊系統(Quarantine Information System)資料庫統計100年1月1日至111年5月30日動植物防疫檢疫局於各港站執行進口植物或其產品有害生物檢測鑑定及相關學術研究單位協助鑑定之工作，共檢測出罹染有害生物者共計58,217批次。

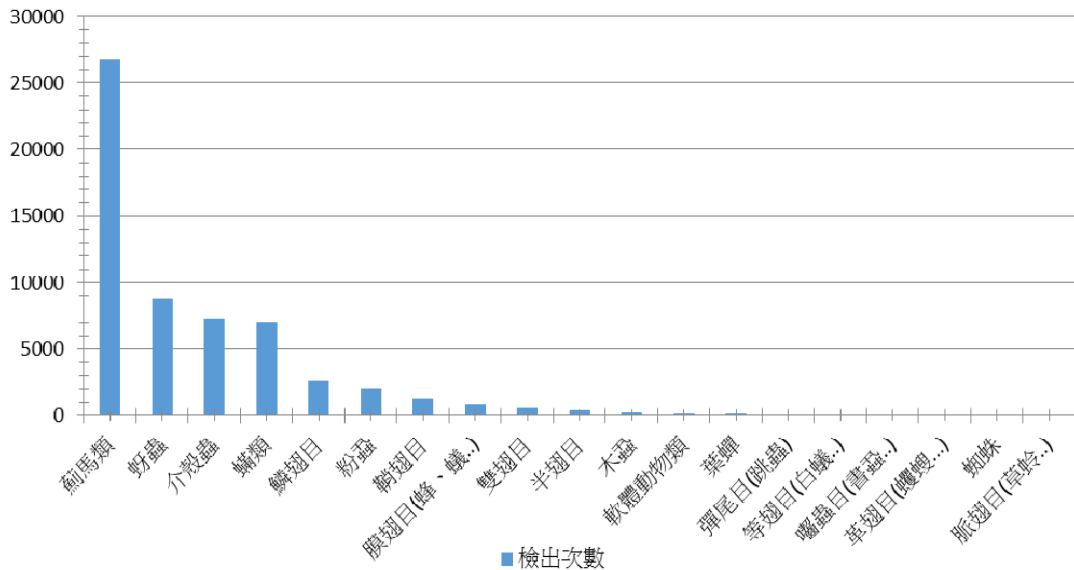
進一步分析檢出為小動物種類進行分析，檢出之有害生物種類仍以昆蟲類為最多，進一步依昆蟲分類群分析，檢出之昆蟲類害蟲共計包括繆翅目、鱗翅目、鞘翅目、雙翅目、半翅目、膜翅目、等翅目、嚙蟲目、彈尾目、革翅目及脈翅目等11目，其中半翅目又包含椿象、介殼蟲、蚜蟲、粉蝨、木蝨及葉蟬等6類。

針對前述昆蟲類別之檢出批次進行統計分析，以繆翅目之薊馬類檢出26,755批次最多，蚜蟲類8,813批次居第2位，介殼蟲類7,262批次居第3位，其他尚有鱗翅目類2,632次，粉蝨類2,022批次、鞘翅目類1,310批次、膜翅目類910批次、半翅目類409批次、雙翅目類571批次、木蝨類243批次、葉蟬類122批及彈尾目類22批次、等翅目及嚙蟲目類各檢出17批次、革翅目3批次、脈翅目檢出1批次。

此外，蟎類亦檢出6,981批次，高居

第四位，其他如軟體動物類125批次，蜘蛛2批次，詳如圖一。另針對近十年檢出

有害生物資料分析比較，每年仍以薊馬類害蟲檢出批次最多。



圖一、2011-2022年進口植物或其產品常檢出之微小動物種類統計表。

蟎類檢疫現況

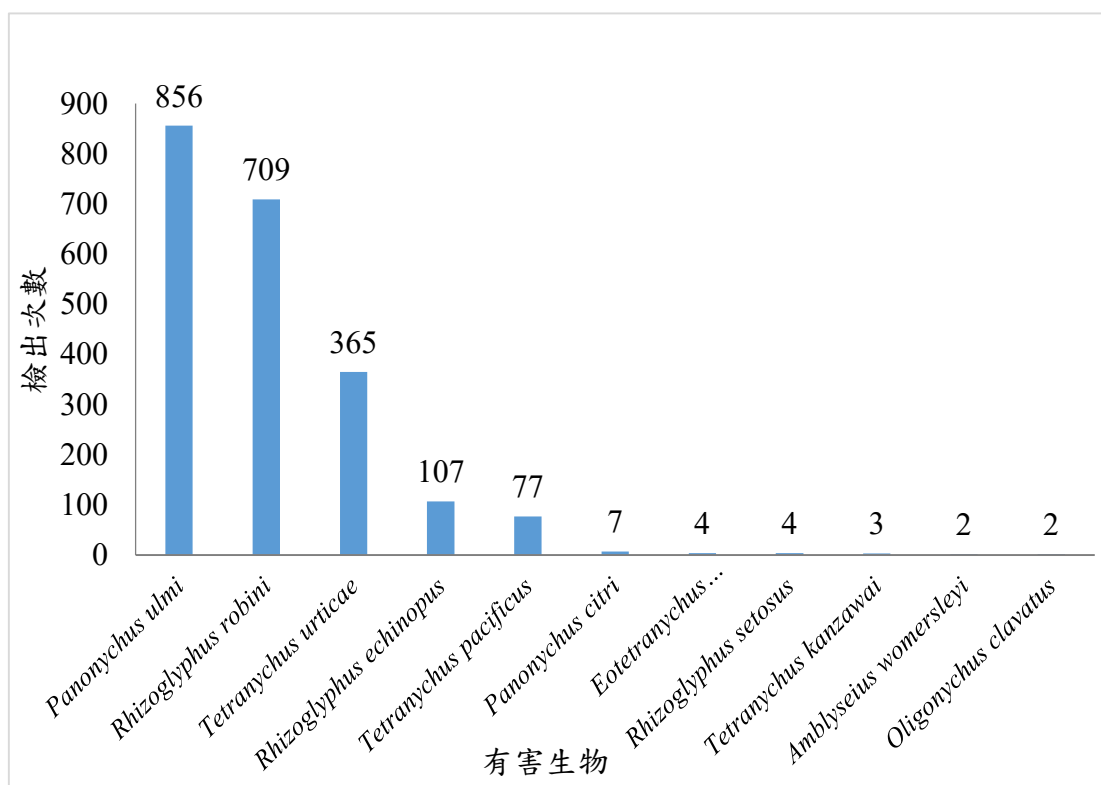
依據行政院農業委員會動植物防疫檢疫局之植物疫病害蟲偵測鑑定資訊系統資料庫自2011年至2022年5月於台灣進口植物或植物產品檢出之蟎類害蟲共6,981次(佔總數58,217次之11.99%)。蟎類之體型極為細小，部分種類如細蟎、節蟎肉眼幾乎無法觀察到，因此如不仔細觀察亦常被忽視。在進出口農產品中所可能潛伏之蟎類，目前檢疫單位所重視的以植食性蟎類為主，如葉蟎類、根蟎類等，因此進口農

產品中所檢出之蟎類繁多，除取食該植物產品外尚有暫居棲息於其中者，包括捕食性蟎類、腐生性蟎類、菌食性蟎類及寄生性蟎類等。

在進口植物或植物產品中檢出以歐洲葉蟎(*Panonychus ulmi*)檢出856次為最多，其次為檢出709次之羅賓根蟎(*Rhizoglyphus robinii*)，再其次為二點葉蟎(*Tetranychus urticae*) 365次，而列名「中華民國輸入植物或植物產品檢疫規定」中乙類有條件輸入植物或植物產品檢疫條件之檢疫有害生物名單之刺足根蟎

(*Rh echinopus*) 檢出107次，其它如太平洋葉蟪 (*T. pacificus*) 77次等，相關資料詳

如圖二。

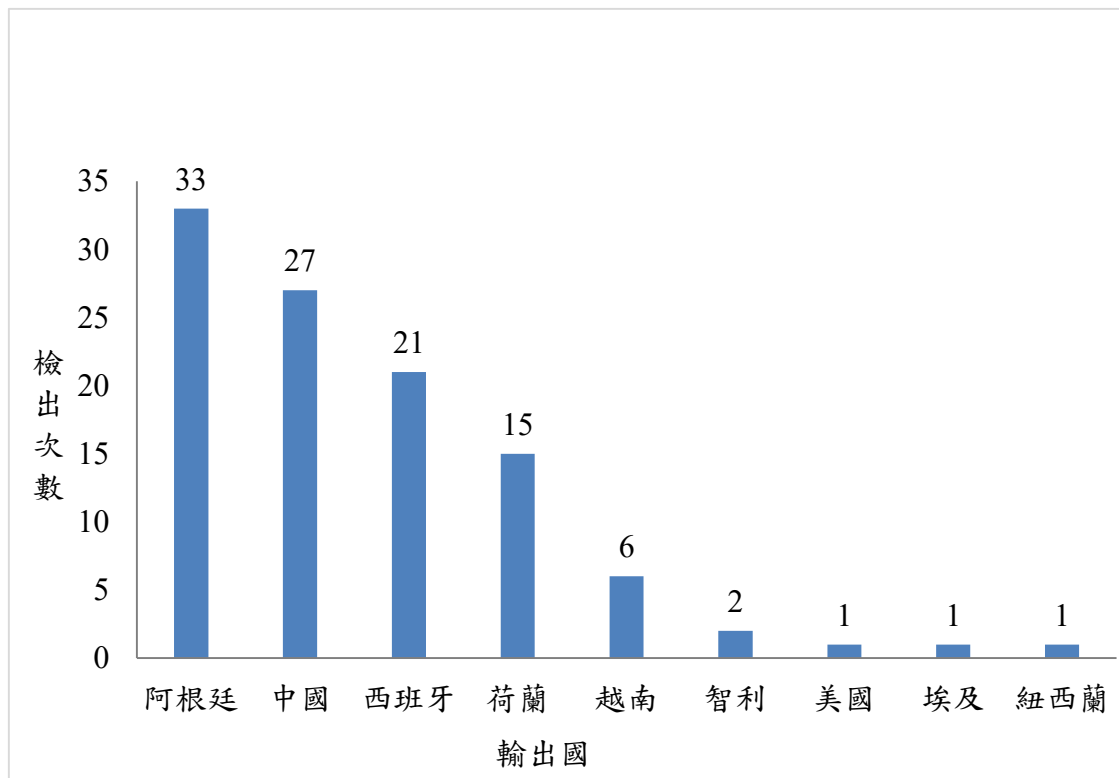


圖二、2011–2022 年進口植物或植物產品檢出之蟎類次數統計表。

刺足根蟎 *Rhizoglyphus echinopus* Fumoyze Robin

刺足根蟎列名為「中華民國輸入植物或植物產品檢疫規定」中乙類有條件輸入植物或植物產品檢疫條件之檢疫有害生物名單，為世界性重要球根作物害蟎，其寄主植物範圍相當廣泛。共計檢出有 107 次，包括 9 個國家所出口至我國之植物或產品曾被檢出，其中以來自阿根廷之植物

產品檢出 33 次最多，檢出之植物均為大蒜，其次為來自中國之植物產品檢出 27 次，檢出之植物為水仙(24 次)及時用百合(3 次)，而後來自西班牙之大蒜檢出 21 次，而自荷蘭植物產品檢出 15 次，作物包括小蒼蘭、西洋水仙、風信子、雪片蓮屬、番紅花、紫燈花屬、葡萄風信子、鳶尾及鬱金香等(圖三)。



圖三、2002–2011 年間進口植物或植物產品曾檢出刺足根蟊國家次數統計表。

羅賓根蟊(*Rhizoglyphus robinii*)與長毛根蟊(*Rhizoglyphus setosus*)

曾被檢出之根蟊種類中，除檢疫害蟊-刺足根蟊外，尚有羅賓根蟊與長毛根蟊等 2 種，由於此三種根蟊危害之植物種類與習性均相當近似，故進口植物產品在檢出根蟊時，常發生樣品中混雜有上述 2 種或以上之根蟊。羅賓根蟊檢出次數有 709 次，計有 16 個國家所出口至我國之植物或植物產品被檢出，其中以荷蘭的 319 次為最

多，檢出植物包括百合、萱草、鳶尾及鬱金香；其次為阿根廷之大蒜檢出 231 次，再其次為西班牙之產品 37 次，主要以大蒜及洋蔥為主要農產品，而智利的百合有 33 次之多，其他如法國的百合(25 次)，日本有 18 次，其植物產品包括百合、孤挺花、洋蔥、食用百合及萱草等；長毛根蟊被檢出次數有 4 次，包括印度尼西亞、香港、荷蘭及越南等 4 個國家所出口至我國之植物或植物產品有檢出記錄(表一)。

表一、2011-2022 年輸出國植物產品曾檢出羅賓根蟎與長毛根蟎次數統計表

有害生物	檢出次數	輸出國	檢出次數	寄主植物	檢出次數
長毛根蟎	4	印度尼西亞	1	分蔥	1
		香港	1	珠蔥	1
		荷蘭	1	百合	1
		越南	1	分蔥	1
羅賓根蟎	709	韓國	6	大蒜	1
				洋蔥	5
		中國大陸	10	水仙	4
				百合	4
				食用百合	1
				大蒜	1
		日本	18	百合	3
				孤挺花	1
				洋蔥	2
				食用百合	11
				萱草	1
		印度	1	火球花	1
		印度尼西亞	4	分蔥	4
		西班牙	37	大蒜	34
				洋蔥	3
		法國	25	百合	25
		阿根廷	231	大蒜	231
		美國	6	洋蔥	5
				鳶尾	1
		香港	1	食用百合	1
		埃及	2	大蒜	2

		泰國	1	分蔥	1
		紐西蘭	5	百合	5
		荷蘭	319	百合	314
				萱草	2
				鳶尾	2
				鬱金香	1
		智利	33	百合	33
		越南	10	分蔥	7
				洋蔥	1
				大蒜	2
總計	713		713		713

其他植物性蟎類

其他植食性蟎類包括歐洲葉蟎、二點葉蟎、太平洋葉蟎、柑橘葉蟎、六點始葉蟎(*Eotetranychus sexmaculatus*)及棒毛小爪蟎(*O. clavatus*)等六種。在所有檢出蟎類中，歐洲葉蟎為檢出次數最高者高達 849 次，以溫帶地區發生較為普遍，通常以落葉果樹為其主要寄主，葉片被害嚴重時會產生白色細針狀斑點。就檢出歐洲葉蟎資料做進一步分析，計有 9 個國家所輸出之植物或其產品檢出，幾乎全自蘋果上檢出達 832 次，其中以來自美國之蘋果檢出 340 次。其次為二點葉蟎檢出 365 次，二點葉蟎的寄主範圍相當廣，屬於世界是

分布害蟎，檢出之 365 次中，以美國之桃等檢出 75 次最多，其次為日本之蘋果及草莓等檢出 72 次，再其次為韓國之蘋果、梨及草莓共檢出 32 次，紐西蘭的草莓等 32 次，東南亞的馬來西亞菊花也檢出 22 次之多；太平洋葉蟎為美國主要害蟎，危害多種經濟植物，共檢出 77 次，檢出對象為來自美國之桃 59 次，泰國石斛蘭檢出 1 次；柑橘葉蟎為柑橘類主要害蟎、危害柑橘葉片、嫩枝及果實等部位，檢出對象為來自日本之柑橘類 6 次，美國的桃 1 次。六點始葉蟎主要危害果樹類，檢出對象為來自紐西蘭之軟棗獼猴桃 3 次及奇異果 1 次。棒毛小爪蟎危害針葉樹，檢出對象為來自日本之黑松 2 次（圖二）。

其他非植食性蟎類

非植食性蟎類包括加州小新綫蟎 (*Amblyseius californicus*)、西方捕植蟎 (*Typhlodromus occidentalis*)、長毛捕植

蟎 (*A. longispinosus*)、馬氏鈍綫蟎 (*A. maa*)、溫氏捕植蟎 (*A. womersleyi*) 等 5 種。在檢出國家包括美國、日本、泰國及智利(表二)。

表二、2011–2022 年輸出國曾檢出其他非植食性蟎類之相關植物產品次數統計表

蟎類	檢出次數	輸出國	檢出次數	寄主植物	檢出次數
加州小新綫蟎	1	智利	1	蘋果	1
西方捕植蟎	1	美國	1	蘋果	1
長毛植綫蟎	1	泰國	1	蘆筍	1
馬氏鈍綫蟎	1	泰國	1	茛蓂	1
溫氏捕植蟎	2	日本	2	草莓	1
				葡萄	1
總計	6		6		6

重要檢疫蟎類

一、刺足根蟎

分類地位

真蟎目(Acariformes)

無氣門亞目(Astigmata)

粉蟎科(Acaridae)

害蟎名稱

學名：*Rhizoglyphus echinopus*

Fumouze and Robin

中名：刺足根蟎

英名：bulb mite, root mite

寄主植物

寄主植物很廣，包括許多重要球根，球莖、根莖、塊莖及鱗莖類之蔬菜與花卉作物，諸如百合科、石蒜科、鳶尾科、茄科及十字花科等作物，其中包括洋蔥、蔥、韭、蒜、薑黃、辣椒、馬鈴薯、芋頭、甜

菜、馬鈴薯、葡萄、胡蘿蔔、百合、唐菖蒲、鬱金香、鳶尾風信子、水仙、石蒜、大理花、孤挺花、番紅花、嘉蘭、香雪蘭、蘭花、牡丹、小葉垂楊、稻草、禾穀類、菇類、半夏、象貝、人蔘、裸麥、貯存穀物、加工水果及蔬菜、土壤等(Garman 1937 ; Manson 1972 ; Muller & Hollinger 1980 ; Baker 1983 ; Wang 1985 ; Nakao 1991)。

地理分布

亞洲:中國大陸、日本、韓國、印度、以色列、伊朗、烏茲別克、亞美尼亞

非洲:埃及

歐洲:英國、蘇格蘭、丹麥、荷蘭、比利時、德國、法國、西班牙、瑞士、波蘭、匈牙利、羅馬尼亞、阿爾及利亞、義大利、俄羅斯、烏克蘭、哈薩克、土庫曼

美洲:美國、加拿大、阿根廷、哥倫比亞

大洋洲:紐西蘭

鑑定特徵

第1對足膝節 σ_1 與 σ_2 毛約等長;跗節ba毛呈距(spur)狀。體背ve毛位於前背板側面中間，很短或缺如。sci毛75–133 μm 。sex毛呈剛毛(seta)狀;肛毛6根皆很短。貯精囊(sacculus)的基盤(basal disc)大而寬(Tseng 1972 ; Bu & Li, 1998)

生態習性與為害

刺足根蟻一般棲息於含有機質土壤中，以植物之根系或地下組織為食，偶有取食土中之腐葉敗根或其它植物殘骸等有機質為生，由於長期生活地表下，而被農民所忽略，一直未受重視。生活史分為卵期、幼蟻期、前若蟻期、後若蟻期和成蟻期，成蟻壽命可達70日左右，雌成蟻一生約產145粒卵(Garman 1937 ; Gerson *et al.* 1983)。

刺足根蟻為害作物之方式可分成直接為害和間接為害。通常為害百合時，初期會聚集在根系周圍及鱗莖表面群集為害其根系和鱗莖基部(基盤處)，造成其組織受害，呈現軟化水浸狀傷痕，之後才侵入鱗莖內部取食，被害部呈現淡黃褐色斑點，而後被害部逐漸擴大，顏色逐漸加深呈褐色，當地下部根系受害時，植株之上層根系無法正常伸長吸收水分及養分，而下位葉開始黃化、枯萎或脫落，為害嚴重時，導致植株枯萎、死亡，造成缺株之現象(Bald & Jefferson 1952 ; Rawlins 1955 ; Tomonaga 1963 ; Woodring 1969 ; Wei & Huang 1990 ; Kato *et al.* 1994 ; 陳等 1999)。間接為害根蟻會傳播數種植物性病害(Okabe & Amano 1991)，如百合及唐菖蒲萎凋病、百合莖腐病、百合軟腐病、唐菖蒲細菌性萎凋病等重要病害(Forsberg 1959 ; Poe *et al.* 1979)。

根蟻由於本身個體細小，行動緩慢，

因而其遷移能力相當低，經常需藉由外力之幫助來達到長距離遷移之目的。一般根蟎會隨著百合、唐菖蒲、鬱金香及風信子等種球之買賣而散播，短距離的由鄉(鎮)傳至他縣(市)，中距離可由國與國之貿易而傳播，更遠的可由洲際貿易而散播全世界。根蟎也可藉由植物之移植而散播，諸如蔥、韭、百合及晚香玉等宿根性作物之分株移植，導致根蟎附隨植株而散播。

由於根蟎生活於土壤中，取食植物之根系與地下組織，為害初期因密度較低，並不易察覺，待為害徵狀出現時，根蟎之數量已大增，而植物也因根部被取食殆盡，而瀕臨死亡(Gerson *et al.* 1985)。由於根蟎生活於土中，生物習性獨特，單靠殺蟲(蟎)劑已無法有效加以防除(Jefferson *et al.* 1956 ; Lindquist & Powell 1976 ; Lee & Wen 1980 ; Yathom & Ben-Yephet 1983 ; Boczek *et al.* 1985 ; Shinkaji, *et al.* 1986 ; Uebayashi *et al.* 1986 ; Knowles *et al.* 1988 ; Perez *et al.* 1989 ; Zhao *et al.* 1996 ; Javadi Khederi 2019)，因此防治根蟎之關鍵就是作好預防工作。

二、歐洲葉蟎

分類地位

真蟎目(Acariformes)

前氣門亞目(Prostigmata)

葉蟎科(Tetranychidae)

害蟎名稱

學名：*Panonychus ulmi* Koch

中名：歐洲葉蟎 (蘋果葉蟎)

英名：European red spider mite

寄主植物

主要寄生梨、蘋果、、李、桃櫻桃李、扁桃、櫻桃、柑橘、葡萄、無花果、核桃、桑、榆、朴樹、楓、刺槐、赤楊、紫藤及月季等。

地理分布

中國大陸、日本、台灣、紐西蘭、美國、英國、法國、德國、加拿大、瑞典、芬蘭、俄羅斯、黎巴嫩及澳洲。

鑑定特徵

第 1 對足跗節具 2 對複毛；第 2 對足跗節僅具 1 對複毛。前足體背面 3 對毛，後半體毛位正常。體背之毛長於白色肉突上。肛毛 2 對，肛側毛 2 對。爪間體成爪狀，腹面具垂直於爪之毛束，長度不超過爪體間。雄性陽莖側面呈細長彎曲狀(Magdalená & Meyer 1981)。

生態習性與為害

歐洲葉蟎棲息於植物葉背，以口器吸食汁液為害，受害葉初期呈白色斑點，密度高時葉片黃化、脫落，早期密度高時常使剛萌芽枯萎，影響產量和品質，偶有影響當年結果枝的形成，間接影響隔年開花與結果(Dao *et al.* 2015)。

歐洲葉蟬以滯育卵越冬，滯育卵主要分布在 2-4 年生的枝條分叉處或枝條下，越冬卵於隔年 4-5 月開始孵化，孵化之幼蟬向新葉遷移，之後蔓延至全株(羅與吳 1979 ; Yin *et al.* 2013 ; Khajehali *et al.* 2021)。

三、酪梨葉蟬

分類地位

真蟬目(Acariformes)

前氣門亞目(Prostigmata)

葉蟬科(Tetranychidae)

害蟬名稱

學名：*Oligonychus perseae* Tuttle,
Bark and Abbatiello

中名：酪梨葉蟬

英名：perseae mite

寄主植物

酪梨、蜀葵(*Malva sp.*)、長腳豆樹(*Ceratonia siliqua*)、胭脂樹(*Bixa orellana*)、柳樹(*Salix sp.*)、苦苣(*Sonchus sp.*)等。

地理分布

主要分布美國、墨西哥、哥倫比亞、西班牙、敘利亞及以色列等地。

鑑定特徵

雌成蟬體長 319 μ m，淡黃綠色，橢圓形。背面表皮紋路纖細，前足體壁線條

縱走，延伸至後半體第一對背中毛。後半體壁線條在第 3 對背中毛間形成倒 V 字型條紋，背部剛毛細長。雄蟬近菱形，毛序似雌蟬，體型較雌蟬小，陽莖末梢向下彎曲，尖端短而銳(Sandoval *et al.* 2011)。

生態習性與為害

酪梨葉蟬有 5 個發育階段，包括卵、幼蟬、第一若蟬、第二若蟬及成蟬。幼蟬有足 3 對，若蟬及成蟬具足 4 對。行網巢生活，可在葉背中肋及側脈間築絲巢，並在其內完成所有發育階段，包括蛻皮、交配及產卵等。對氣候環境敏感，族群密度於夏季時達到高峰，秋冬季時迅速衰退，只有少部分卵可殘存越冬並於春季重新建立族群。葉蟬之遷移除本身爬行外，尚可藉由吐出絲線隨季節風飄散，另外，蟬隻也可附著在農機具或耕作者之衣褲上，因此，受污染之廢棄物、農耕器具及衣物被視為此蟬在加州散佈的原因之一(Aponte & McMurtry 1997)。

本蟬一般以葉背取食為主，可造成 1–5mm² 之圓形壞疽斑點，並覆蓋一層完整絲網，隨著取食的增加，斑點可融合成大的壞疽條斑，於葉表之相對區域則為黃色及褐色斑塊，危害嚴重時可使植株部份或全株落葉，增加了枝條及果實日燒之風險；葉蟬族群密度過高時會擴散至葉表定居，或分散到嫩枝或幼果取食危害(McMurtry & Johnson 1966, 楊 2007)。

四、太平洋葉蟬

分類地位

真蟬目(Acariformes)

前氣門亞目(Prostigmata)

葉蟬科(Tetranychidae)

害蟬名稱

學名: *Tetranychus pacificus* McGregor

中名: 太平洋葉蟬

英名: Pacific spider mite

寄主植物

檸檬、葡萄柚、無花果、桑、甜瓜、莧、細辛、馬利筋屬、向日葵、蕓薹屬、番薯屬、北瓜(南瓜子)、南瓜屬、紫花苜蓿、*Phaseolus* sp、刺槐、野決明、三葉草、野豌豆、玉米、加州核桃木、普通胡桃、苦薄荷、鼠尾草、水蘇、木蘭、棉花屬、錦葵、苦楝、丁香、類博落迴、花菱草、*Ceanothus fendleri*、杜梨、柇子屬、蘋果、*Oemleria cerasuformis*、杏、甜櫻桃、李、扁桃、*Prunus* sp.、美洲稠李、西洋梨、懸鉤子、*Philadelphus gordonianus*、山梅花、醋栗、茄、榆、葡萄等。

地理分布

分布於加拿大、美國、墨西哥等地。

鑑定特徵

葉蟬屬之爪退化成小墊狀，各具 2 根

幕狀毛。爪間體裂為 4–6 根腹纖毛。第 1 對足跗節具 2 對複毛。末體背毛 10 對、肛毛 2 對、肛側毛 1 對。

雌蟬：爪間體具 6 根腹纖毛、無背距。第 1 對足跗節在近體端之腹毛上方具 4 根觸覺毛；體表紋路在背毛 e1 與 e1 間為橫紋或斜紋、f1 與 f1 間為橫紋、e1 與 f1 間為橫紋。背面紋路具小頁狀構造，腹面紋路則無。生殖板前方紋路淡而不完整或缺，或在側方有極淡之紋路。

雄蟬：第 1 對足爪體間爪狀具強距(4-6 μ m)；第 2–4 對足爪體間為分裂之纖毛狀；第 2 對足爪體間具小距(3–4 μ m)；第 3、4 對足爪體間具微距(<2 μ m)。陽莖端垂部大，近 S 形，前端有小而明顯之突出(Pritchard & Backer 1955)。

生態習性與為害

太平洋葉蟬在葉背及葉面皆可危害，以口針刺破細胞壁，取食細胞內含物。於溫帶地區以雌成蟬在樹皮下或近樹幹之土壤中越冬。其危害以口器在葉片上吸食造成白斑，當密度增加後，斑點擴大，葉片全面黃化，並提早落葉。太平洋葉蟬於低密度時也能造成大危害。此蟬密度高時，嚴重為害造成枝梢變形(Haviland *et al.* 2021)。

五、六點始葉蟬

分類地位

真蟎目(Acariformes)

前氣門亞目(Prostigmata)

葉蟎科(Tetranychidae)

害蟎名稱

學名：*Eotetranychus sexmaculatus*
(Riley)

中名：六點始葉蟎

英名：six-spotted spider mite

寄主植物

為害柑桔、油桐、腰果、茶樹、芭樂、臺灣相思、苦楝、菠蘿蜜和橡膠等經濟植物和野生植物。

地理分布

分布於大洋洲的澳洲及紐西蘭，北美的美國，亞洲的中國。

鑑定特徵

橢圓形。雌蟎體長 340–430 μm ，寬 200 μm –250 μm 。黃色，體背近前、後緣兩側各有 1 塊多角形褐斑。氣門溝端都膨大，略向內彎曲。鬚肢附節錘突較大，端部純圓，錘突長度顯著長於其寬度；軸突短於錘突。背毛剛毛狀，不著生在瘤突上。第一足附節爪條狀，端部著生粘毛 1 對；爪間體端部分裂成 3 對刺。雄蟎體長 300–330 μm ，寬 130–150 μm ，末端略尖，呈楔形，黃色。鬚肢錘突很小，軸突大於

錘突數倍。陽莖狹長，端部較尖，略向下彎曲 (Pritchard & Backer 1955)。

生態習性與為害

以成蟎越冬，越冬場所以芽鱗為主，其次為枝幹裂痕和傷疤。翌年春，當樹發芽時，越冬成蟎開始活動，幼蟎爬往新葉危害。初期在葉背基部主脈與側脈交叉處吸食，後沿主脈兩側蔓延到全葉。早期被害葉片，由於被害部分停止生長，往往變為畸形；當葉片長成後被害，全葉上出現褐色斑塊(Jamieson & Stevens 2007)。

六、智利偽葉蟎

分類地位

真蟎目(Acariformes)

前氣門亞目(Prostigmata)

偽葉蟎科(Tenuipalpidae)

害蟎名稱

學名：*Brevipalpus chilensis* Baker

中名：智利偽葉蟎

英名：Chile false red mite、grape flat mite

寄主植物

柳橙、葡萄、檸檬、蘋果、杏、水蠟樹、蛇葡萄屬、酸澄、橘、日本柿子、毛葉番荔枝、無花果、奇異果、台灣羊桃、椴椴、菊屬、天竺葵屬、黃金樹、田玄花、芹菜、長春花屬、*Cestrum palqui*、茶藨

子(*Ribes georgianus*)、*Quenopodium ambrosioides*等。

地理分布

智利、阿根廷、印度等地。

鑑定特徵

體背的毛呈剛毛狀，較短於它和下一根毛的毛距。末體無亞背側毛，具 5 根背側毛。前足體背面均勻呈現網紋，大多為多角型之紋路。腹面具 2 對中腹毛。第二對足末端只有 1 根感毛(solenidium)；觸肢末節具 1 根感毛(solenidium)及 2 根剛毛(Magdalena & Meyer 1981)。

生態習性與為害

在葡萄以上交配過得雌成蟎群聚藏在數皮下的溝縫中越冬，能耐低溫高濕。春天發芽時，越冬後的雌成蟎在取食 4–6 天後即可產卵，卵產在新梢的葉片上或未展開的芽裏。雌成蟎平均壽命 30 天，最高可產 130–140 粒卵。再製酒葡萄上，智利偽葉蟎的危害尿葉片捲曲並呈青銅色，使花梗及莖脫水、產生褐斑或壞死；高密度時能引起組織脫水而導致新芽死亡。被害株的新葉較小、新枝較短、產量降低。在鮮食葡萄梗上造成壞死斑，可能使得果實脫水而起皺褶(Chagas *et al.* 2003)。

在其他經濟作物上，如柑桔類、奇異果、毛葉番荔枝(*Cherimoya*)上均未發現有明顯的害物徵狀。在毛葉番荔枝果園中存

在於葉片、枝條及果實上，以枝條及果實為主。當未結果時，族群主要棲息於枝條上。結果後，族群移向果實而較偏好果實；果實表面及果柄上都會存在。調查的全年間，葉片上的數量均較枝條和果實上少很多。全年中的族群密度高峰一般出現在 1–2 月。在柑桔類植株上的冬天族群包括活動期及卵，和葡萄等落葉果樹上以交配過的雌成蟎越冬不同。

七、紫紅偽葉蟎

分類地位

真蟎目(Acariformes)

前氣門亞目(Prostigmata)

偽葉蟎科(Tenuipalpidae)

害蟎名稱

學名：*Brevipalpus phoenicis* (Geijskes)

中名：紫紅偽葉蟎

英名：false spider mite、leprosis mite

寄主植物

香蕉、檸檬、澳洲堅果屬、蘭花、木瓜、百香果、咖啡、椰子、柿子、番茄、梨、番石榴、葡萄柚、枇杷、桃子、菩提樹、安蘇列姆屬、*Oroxylum indicum*、*Hemigraphis* sp.可可、檬果樹、榕樹、人心果、印度棗、桑、桃、枇杷、番石榴、葡萄、溫棗、紅薯、鐵莧屬、醉魚草屬、薔薇科、梨樹、觀賞植物、藥用植物等(Childers *et al.* 2003)。

地理分布

亞洲：馬來西亞、印度、孟加拉、印尼、菲律賓、柬埔寨、塞普勒斯、琉球群島、寮國、巴基斯坦、斯里蘭卡、土耳其、越南、泰國、以色列、葉門、里克米亞半島、敘利亞、喬治亞、台灣。非洲：南非、剛果、埃及、肯亞、馬拉威、安哥拉、烏干達、辛巴威、蒲隆地、喀麥隆、牙利塔尼亞、模里西斯、莫三比克、盧安達、留尼旺、聖赫倫那島、蘇丹、坦尚尼亞、突尼西亞、衣索比亞、俄羅斯、葡萄牙、烏克蘭、西西里島。美洲：美國、阿根廷、委內瑞拉、哥斯大黎加、巴西、古巴、蓋亞那、牙買加、巴拉圭、波多黎各、千里達托貝哥、澳洲、斐濟、諾福克島、所羅門群島、東加。

鑑定特徵

具口喙板(rostral shield)。觸肢 4–5 節。前背板中央具稀疏而近於橢圓網紋。後半體背面具 3 對中剛毛，5 對側剛毛，無亞側毛。生殖板與腹板分開，腹板長方形。第 2 對足跗節端部具 2 感棒 (王 1981)。

生態習性與為害

各齡期以口針刺吸葉片，吸取汁液，形成褐色斑塊，受害葉片上廣布紅色的卵及脫下的蛻。紫紅偽葉蟎在嫩莖及葉片上吸食危害，沿葉片中肋及邊緣形成褐色的

斑塊，降低光合作用。此蟎對柑桔的危害能造成葉片壞疽，被害植株在無法抽出新芽，因而導致果實減產，嚴重時造成植株亡。除了直接取食危害，此蟎尚能傳播 citrus leprosis rhabdo virus 及 coffee ringspot virus disease 所引起的病毒病 (Chagas *et al.* 2003; Childers *et al.* 2003; Kitajima *et al.* 2003; Kondo & Tamada 2003; Rodrigues *et al.* 2003)。

八、瓜食酪蟎

分類地位

真蟎目(Acariformes)

無氣門亞目(Astigmata)

粉蟎科(Acaridae)

害蟎名稱

學名：*Tyrophagus neiswanderi*

Johnston & Bruce

中名：瓜食酪蟎

英名：pollen-cap mite、cucumber mite

寄主植物

溫室中的觀賞植物、*Cymbidium* 屬蘭花、蝴蝶蘭、小蒼蘭種球、番紅花種球、倉儲穀類等。

地理分布

中國大陸、日本、瑞士、捷克、波蘭、

英國、美國、墨西哥、紐西蘭。

鑑定特徵

體微小，約 400 μ m。第 1 對足的 ba 毛不成距狀。前背板的前側有一深色的角膜，ve 毛位於前背板前側角處，長度近 vi 毛。sc i 及 sc e 毛長，sc i 尤長。基節上毛(sc x)櫛齒狀。d1 與 12 長度相當；d2 略長於 d1；d3–d5、13–15 均甚長，在體後形成長毛列(Hughes 1961)。

生態習性與為害

瓜食酪螨於日本蝴蝶蘭花苞有危害記錄；在溫室中危害黃瓜葉片，在 *Cymbidium* 屬蘭花及 *Phalaenopsis* 蝴蝶蘭及一些種植於溫室的觀賞植物上有防治的需求。小蒼蘭、番紅花、鬱金香、風信子的種球均可作為它的食物。也曾在菊屬植物的插枝的生長點發現瓜食酪螨為害，於倉儲穀類和居家灰塵中也能發現此螨(Kirişik *et al.* 2018)。

九、梨植羽癭螨

分類地位

真螨目(Acariformes)

前氣門亞目(Prostigmata)

癭螨科(Eriophyidae)

害螨名稱

學名：*Phytoptus pyri* Pagenstecher

中名：梨植羽癭螨

英名：Pear leaf blister mite

寄主植物

寄主植物有梨、蘋果、海棠、桃、花楸、槲櫟、山楂等。以梨為主。

地理分布

分布於歐洲的中、西部、南非、小亞細亞、北美洲及中國大陸等地(匡 1986, 1995)。

鑑定特徵

雌癭蠕蟲型，長 135–195 μ m，寬 45–57 μ m，淡黃色。喙斜下伸。背盾板較平截，背中線不完整，斷續狀，側中線完整，波狀，有亞中線，盾板兩側緣有粒點；背瘤位於盾後緣，瘤距 12 μ m，背毛 22 μ m，斜後指。基節間具腹板線，基節剛毛 3 對，基布有粒點。族脛節剛毛生於背基部 1/3 處；跗節之頂端球不明顯，羽狀爪單一，4 支。大體背、腹環數近似，約 80–90 環，均具橢圓形微瘤。側毛生於 8 環。腹毛 I 生於 25 環；腹毛 II 生於 54 環；腹毛 III 生於體末 5–6 環。有副毛。雌性外生殖器蓋片有縱肋 10–12 條 (Magdalena & Meyer 1981；匡 1995)。

生態習性與為害

可為害葉、花蕾、子房等部位，但以危害葉片為主。被害初期在葉面出現泡疹，嚴重時泡疹紅腫，葉皺縮，沿葉緣由葉背向葉面捲成筒狀，老葉被害後反捲葉

緣。紅腫的泡疹成海綿狀，這就是蟲癭。每個蟲癭都有一個開口，允許蟎體出入在蟲癭內蟎體能繼續生長繁殖，直至被害葉枯死。被害子房、花蕾造成落蕾落果而後害蟎遷移。受害後，產量損失達 25% (Kuang 1995)。

十、葡萄缺節癭蟎

分類地位

真蟎目(Acariformes)

前氣門亞目(Prostigmata)

癭蟎科(Eriophyidae)

害蟎名稱

學名: *Colomerus vitis* (Pagentstecher)

中名: 葡萄缺節癭蟎

英名: grape erineum mite

寄主植物

寄主植物葡萄。

地理分布

分布在瑞士、保加利亞和俄羅斯及中國大陸等地。

鑑定特徵

雌成蟎體蠅型，長 160–200 μ m，寬 50 μ m，淡黃色或乳白色。喙斜下伸。背盾板無前葉突；背中線不完整，約占盾板長度的 2/3，側中線完整，斷續狀，亞中線數條；背瘤位於近盾後緣。基節間有腹板線，基節剛毛 3 對，基節上有曲線紋。足 II

具模式剛毛，羽狀爪單一，5 支，不具端球。大體背、腹環數相仿，約 65–70 環，均具橢圓形微瘤。側毛生於 7 環。雌性外生殖器靠近基節，呈菱狀，生殖器蓋片有縱肋 16 條，呈間斷狀，分成 2 列 (Magdalena & Meyer 1981; 匡 1995)。

生態習性與為害

葡萄缺節癭蟎主要危害葉片，也危害花序和捲鬚。用刺吸式口針吸取植物細胞汁液，被害處由於受到刺激，葉細胞產生不規則的分裂，葉的表皮可增殖 19–29 倍，生成絨毛狀組織，稱之為毛氈。多數毛氈位於葉背，大小和形狀不一，初形成的毛氈為白色或黃白色，後變褐黃色。為害嚴重的葉片發黃乾枯，造成落葉，被害後的花序和捲鬚最後亦乾枯致死 (匡 1995; Bernard *et al.* 2005)。

結語

臺灣農作物害蟎問題本不嚴重，1970 年代間各種農業蟎類逐漸造成為害，包括葉蟎、偽葉蟎、細蟎、節蟎及根蟎等，因此也採取對應防治措施。1980–2000 年代間農業蟎類問題更為嚴重，包括自國外入侵的二點葉蟎、歐洲葉蟎、山楂葉蟎及路易士始葉蟎，在許多重要經濟作物均成為主要的危害蟎類(Ho 1999; 何 2003)。近年來由於國際交通的便捷與國際貿易的交流，各種有害生物藉由不同管道、方式，

向世界各地蔓延，我國自 2002 年正式成為世界貿易組織(WTO)會員，得以採行合理且科學根據之動植物防疫檢疫措施，以防杜動植物疫病蟲害入侵，確保農業生產安全及維護動植物及國人安全(葉與周 2003)。因此必須加強疫病蟲害之風險評估，以採取適當檢疫防疫措施，並強化進口動植物及其產品的檢疫工作，有效杜絕國外農產品攜入危險性有害生物，加強植物疫情監測與通報系統，採行緊急防治撲滅措施，抑止新入侵病蟲害之立足與蔓延，確保我國農業及其產品之國際競爭力與永續經營。

參考文獻

- 王慧芙編著。1981。中國經濟昆蟲誌·蟎目 葉蟎總科 (第二十三冊)。中國北京：科學出版社。150 頁。
- 何琦琛。1988。臺灣新入侵之害蟎簡介。中華昆蟲特刊第二號。果樹害蟲綜合防治研討會專刊。p.155-166。
- 何琦琛。1999。農業蟎類待研究的問題。中華昆蟲特刊第十二號。第二屆蟎蜱學研討會專刊。p.121-135。
- 何琦琛。2003。臺灣外來種蟎類及其發生現況。入侵種生物種管研討會論文集。p.183-193。
- 李錫山、溫宏治。1980。根粉蟎為害洋蔥調查及其防治試驗。中華農業研究 29 : 211-218。
- 柯俊成、陳君玳主編。2011。91-100 年進口植物或其產品檢出害蟲之統計與圖鑑害蟲篇增訂版。行政院農委會動植物防疫檢疫局、國立台灣大學昆蟲學系編印。524 頁。
- 陳文華、劉玉章、何琦琛。1999。根蟎在臺灣之發生與分布。中華昆蟲特刊第十二號。第二屆蟎蜱學研討會專刊。p.105-119。
- 匡海源編著。1986。農蟎學。中國北京：農業出版社。198 頁。
- 匡海源編著。1995。中國經濟昆蟲誌·蟎亞綱 瘿蟎總科(一) (第四十四冊)。中國北京：科學出版社。198 頁。
- 曾義雄。1978。臺灣溫帶果樹之新害蟎-橫紋葉蟎。臺灣農業 14 : 50-53。
- 葉瑩、周泳成。2003。入侵疫病蟲害之現況與管理。入侵種生物種管理研討會論文集。p.1-5。
- 楊致璋。2007。檢疫有害生物-酪梨葉蟎 (*Oligonychus perseae*)。動植物防疫檢疫季刊 11: 11-13。
- 羅幹成、吳國家。1979。臺灣蘋果之新害蟎-歐洲葉蟎。中華農業研究 28 : 125-126。
- Aponte, O. and J. A. McMurtry. 1997. Damage on 'Hass' avocado leaves, webbing and nesting behaviour of *Oligonychus*

- perseae* (Acari: Tetranychidae). Experimental and Applied Acarology 21: 265–272.
- Bernard, M. B., P. A. Horne, and A. A. Hoffmann. 2005.** Eriophyoid mite damage in *Vitis vinifera* (grapevine) in Australia: *Calepitrimerus vitis* and *Colomerus vitis* (Acari: Eriophyidae) as the common cause of the widespread 'restricted spring growth' syndrome. Exp. Appl. Acarol. 35: 83–109. doi: 10.1007/s10493-004-1986-4.
- Boczek, J., D. Jaminska, W. A. Bruce, and R. Davis. 1985.** Effect of gamma radiation on *Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze and Robin) and *Aleuroglyphus ovatus* (Troupeau) (Acari: Acaridae). J. Entomol. Sci. 20: 115–120.
- Bu, G. S. and L. S. Li. 1998.** Taxonomic notes on and key to known species of the genus *Rhizoglyphus* (Acari: Acaridae) from China. Systematic and Applied Acarology. 3: 179–182.
- Chagas, C. M., E. W. Kitajima, and J. C. V. Rodrigues. 2003.** Coffee ringspot virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) in coffee. Exp. Appl. Acarol. 30: 203–213.
- Childers, C. C., J. V. French, and J. C. V. Rodrigues. 2003.** *Brevipalpus californicus*, *B. obovatus*, *B. phoenicis*, and *B. lewisi* (Acari: Tenuipalpidae): a review of their biology, feeding injury and economic importance. Exp. Appl. Acarol. 30: 5–28.
- Childers, C. C., J. C. V. Rodrigues, and W. C. Welbourn. 2003.** Host plant of *Brevipalpus californicus*, *B. obovatus*, and *B. phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) and their potential involvement in the spread of viral diseases vectored by these mites. Exp. Appl. Acarol. 30: 29–105.
- Childers, C. C., J. C. V. Rodrigues, K. S. Derrick, D. S. Achor, J. V. French, W. C. Welbourn, R. Ochoa, and E. W. Kitajima. 2003.** Citrus leprosies and its status in Florida and Texas: past and present. Exp. Appl. Acarol. 30: 181–202.
- Childers, C. C. and K. S. Derrick. 2003.** *Brevipalpus* mites as vectors of unassigned rhabdoviruses in various crops. Exp. Appl. Acarol. 30: 1–3.

- Dar, M. Y., R. J. Rao, G. K. Ramegowda, and I. Illahi. 2015.** Seasonal dynamics of *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae) on four varieties of mulberry in Kashmir valley, India Persian J. Acarol. 4.
<https://doi.org/10.22073/pja.v4i3.13222>
- Duzgunes, Z. 1961.** The hawthorn spider mite, *Tetranychus viennensis* Zacher (Acarina: Tetranychidae). Ann. Agric. Faculty Ankara Univ. 13: 389–396.
- Fain, A. 1988.** Notes on the genus *Rhizoglyphus* Claparede, 1869 (Acari, Acaridae), with description of two new species. Acarologia 29: 53–62.
- Forsberg, J. L. 1959.** Relationship of the bulb mite *Rhizoglyphus echinopus* to bacterial scab of gladiolus. Phytopathology. 49: 538.
- Gencsoylu, I., W. Liu, K. A. Usmani, and C. O. Knowles. 1998.** Toxicological studies of the carbamates methomyl and bendiocarb in the bulb mite *Rhizoglyphus echinopus* (Acari: Acaridae). Exp. Appl. Acarol. 22: 157–166.
- Gerson, U., S. Yathom, and J. Katan. 1981.** A demonstration of bulb mite control by solar heating of the soil. Phytoparasitica 9: 153–155.
- Goksu, M. E. 1968.** Research on the biology and control of *Tetranychus viennensis* Zacher (Acarina: Tetranychidae) in the Region of Marmara. Plant Protection Bull. 8: 194–213.
- Hamed, M. S. and C. O. Knowles. 1988.** Metabolism of diazinon, formetanate, bifenthrin, DDT, chlordimeform, and bromopropylate in the bulb mite *Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze and Robin) (Acari: Acaridae). J. Econ. Entomol. 81: 1295–1303.
- Haviland, D. R., S. M. Rill, and C. A. Gordon. 2021.** Treatment thresholds for *Tetranychus pacificus* (Acari: Tetranychidae) in California almonds based on monitoring for the natural enemy *Scolothrips sexmaculatus* (Thysanoptera: Thripidae). J. Econ. Entomol. 114(4): 1834–1841. <https://doi.org/10.1093/jee/toab110>
- Hodson, W. E. H. 1928.** The bionomics

- of the bulb mite, *Rhizoglyphus echinopus*, Fumouze & Robin. Bull. Entomol. Res. 19: 187–200.
- Hughes, A. M. 1961.** The mites of stored food. Tech. Bull. Minist. Agric. Lond. No. 9. 1–287.
- Jamieson, L. E. and P. S. Stevens. 2007.** Development rates, longevity and fecundity of six-spotted mite (*Eotetranychus sexmaculatus*) at constant temperatures. New Zealand Plant Prot. 60: 72–77.
- Javadi Khederi S., M. Khanjani, A. Heidari. M. K. Ramezani, and H. Mosalanejad. 2019.** Comparison of different methods for control of gladiolus bulb mite *Rhizoglyphus Echinopus* (Fumouze & Robin) (Astigmata: Acaridae) under greenhouse conditions Iranian Plant Prot. Res. 32: 509–519
- Jeppson L. R., H. H. Keifer, and E. W. Baker. 1975.** Mites injurious to economic plants. University of California Press, California, 615pp.
- Khajehali, J., E. S. Alavijeh, M. Ghadamyari, and D. Marčič. 2021.** Acaricide resistance in *Panonychus citri* and *P. ulmi* (Acari: Tetranychidae): Molecular mechanisms and management implications. System. Appl. Acarol. 26 DOI:https://doi.org/10.11158/saa.26.8.10
- Kirişik, M., E. Topuz, and S. Çobanoğlu. 2018.** *Tyrophagus neiswanderi* (Acari: Acaridae) as a Pest of Greenhouse Spinach in Antalya, Turkey. Tarim Bilimleri Dergisi. 24. 517–522. 10.15832/ankutbd.349154.
- Kitajima, E. W., C. M. Chagas, and J. C. V. Rodrigues. 2003.** *Brevipalpus* transmitted plant virus and virus-like diseases: cytopathology and some recent cases. Exp. Appl. Acarol. 30: 135–160.
- Kitajima, E. W., J. A. M. Rezende, and J. C. V. Rodrigues. 2003.** Passion fruit green spot virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on passion fruit in Brazil. Exp. Appl. Acarol. 30: 225–231.
- Kondo, H., T. Maeda, and T. Tamada. 2003.** Orchid fleck virus: *Brevipalpus californicus* mite transmission, biological properties and genome structure. Exp. Appl. Acarol. 30: 215–223.

- Lee, H. S. and H. C. Wen. 1980.** Field investigation of the acarid bulb mites on onion and their control. J. Agric. Res. China. 29: 211–218.
- Lindquist, R. K. and C. C. Powell. 1976.** Controlling bulb mites and root rot on easter lilies. Ohio Florists' Assn. Bull. 565: 4–5.
- Manson, D. C. M. 1972.** A contribution to the study of the genus *Rhizoglyphus* Claparede, 1869 (Acarina: Acaridae). Acarologia. 13: 621–650.
- Magdalena K. P. and S. Meyer. 1981.** Mite pests of crops in Southern Africa. Trio-Rand/S.A. Litho. 92pp.
- McMurtry J. A. and H. G. Johnson. 1966.** An ecological study of the spider mite *Oligonychus punicae* (Hirst) and its natural enemies. Hilgardia 37: 363–402.
- Pritchard A. E. and E. W. Backer. 1955.** A revision of the spider mite (Family Tetranychidae). Pacific Coast Entomological Society. 472pp.
- Ragusa, S. and M. A. Zedan. 1988.** Biology and predation of *Hypoaspis aculeifer* (Canestrini) (Parasitiformes: Dermanysidae) on *Rhizoglyphus echinopus* (Fum. & Rob.) (Acariformes: Acaridae). Redia 71: 213–225.
- Rawlins, W. A. 1955.** *Rhizoglyphus solani*, a pest of onion. J. Econ. Entomol. 48: 334–335
- Rodrigues, J. C. V., E. W. Kitajima, C. C. Childers, and C. M. Chagas. 2003.** Citrus leprosis virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on citrus in Brazil. Exp. Appl. Acarol. 30: 161–179.
- Sandoval, M. F., O. Aponte, and C. Vásquez. 2011.** Idiosomal setae analysis in *Oligonychus peruvianus* and *Oligonychus perseae* (Acari: Tetranychidae) from different hosts. Entomotropica 26: 127–136.
- Shinkaji, N., K. Okabe, and H. Amano. 1986.** Rhizoglypine mite (Acari: Acaridae) infesting rakkyo (*Allium chinense* G. Don) and Chinese chive (*Allium tuberosum* Rottler), and their susceptibility to dimethoate and disulfoton. Nihon Oyo Dobutsu Konchu Gakkai Shi. 30: 285–289.
- Tomonaga, T. 1963.** Studies on the biology and the control method of the bulb mite, *Rhizoglyphus echinopus* Fumouze and Robin,

- attacking shallot (*Allium bakeri*). Rep. Fukui Agric. Exp. Stn. 1: 1–79. (In Japanese)
- Tseng, Y. H. 1972.** A Review of the mite family Acaridae (Acarina: Sarcoptiformes) from Taiwan. Tainan Branch Office, Bureau of Commodity Inspection and Quarantine, Ministry of Economic Affairs, Republic of China. Tech. Bull. No. 1: 32pp. (In Chinese)
- Uebayashi, Y., T. Miyata, and T. Saito. 1986.** Insecticide resistance of the bulb mite, *Rhizoglyphus robini* Claparede (Acarina: Acaridae). Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 30: 296–297.
- Wei, H. J. and W. G. Huang, 1990.** Bulb mites- an important underground pest. Kunchong Zhishi. 27: 14–16. (In Chinese)
- Weigel, C. A. and R. H. Nelson. 1936.** Heat treatments for control of bulb mite on tuberose. J. Econ. Entomol. 29: 744–749.
- Woodring, J. P. 1969.** Observations on the biology of six species of acarid mites. Ann. Entomol. Soc. Am. 62: 102–108.
- Yathom, S. and Y. Ben-Yephet. 1983.** Control of *Rhizoglyphus* (Astigmata: Acaridae) mites by metham-sodium soil disinfection. Israel J. Entomol. 17: 109–114.
- Yin, W. D., G. S. Qiu, W. T. Yan, L. N. Sun, H. J. Zhang, H. J., Ma, C. S., and Adaobi, U. P. 2013.** Age-stage two-sex life tables of *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae), on different apple varieties. J. Econ. Entomol. 106: 2118–2125. DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/EC12491>
- Zhao, G., W. Liu, and C. O. Knowles. 1996.** Clofentezine toxicity and fate in the bulb mite, *Rhizoglyphus echinopus* (Acari: Acaridae). Exp. Appl. Acarol. 20: 215–222.

Quarantine Invasion of High-risk Agricultural Mites

Wen-hua Chen¹, and Tsui-ying Chang^{1,*}

¹Department of Plant Medicine, National Pingtung University of Science and Technology,
Pingtung, Taiwan, ROC

Abstract

Mites are important agricultural pests. Their feeding behavior severely damages plants, and there are several species of mites that transmit plant diseases. The mites are small in size, have a short life cycle, and have a high reproduction rate, resulting in a high level of resistance to pesticides in the field, resulting in the inability to effectively control the mites with chemical agents. In recent years, the increase in the quantity and types of agricultural products imported from Taiwan has led to an increased possibility of invasion by alien pests, which may lead to the impact of Taiwan's agricultural production. The purpose of phytosanitary inspection of imported plants and their products is to prevent the introduction, colonization and spread of foreign pests in accordance with the law and to protect Taiwan's agricultural production environment. Plant quarantine in Taiwan is implemented in accordance with the law, and quarantine of plants and plant products imported into Taiwan is implemented. *Rhizoglyphus echinopus*, *Oligonychus perseae* and *Brevipalpus chilensis* are currently phytosanitary mites in Taiwan. We strengthen the quarantine of imported plants in order to prevent mites brought in via imported bulbs from invading Taiwan and causing more serious damage to the agricultural production environment; the list of quarantine pests includes 32 species of mites such as such as *Amphitetranychus viennensis* and *Panonyphus ulmi*, which occur locally in Taiwan . and *Acarapis woodi* that have not yet been found in Taiwan but may be introduced

*Corresponding author.

E-mail: tychang@mail.npust.edu.tw

with the import of plants and the quarantine of imported plants and their products should be actively strengthened to prevent the invasion with the import of agricultural products to ensure the safety of the agricultural ecosystem.

Key words: plant quarantine, plant protection, mite pests, damage

農地有害蟻類之分類及鑑定技術

林宗岐^{1,*} 鍾富雅¹

¹ 國立彰化師範大學生物學系。台灣 彰化市。

摘要

近來，因為外來螞蟻入侵、環境變遷及台灣農業耕作模式的改變，台灣農地環境中有害螞蟻的問題逐漸由小區域個案問題，逐漸擴展成大面積為害農甚至逐漸成為普遍性的疫情。台灣螞蟻的害蟲地位往往會因於不同環境下，因人們所承受不同的危害程度而有不同的處理態度，有害螞蟻的影響通常會因為有害螞蟻發生地方而分為人為生態環境或都市生態環境 (urban ecosystem) 的有害螞蟻與農業生態環境 (agroecosystem) 中的有害螞蟻，而有不同的感受與之後的防治作為。目前於台灣農業生態環境中有 18 種常見有害螞蟻，其中則以食性廣泛的雜食性家蟻亞科，偏好液態食物的山蟻亞科與琉璃蟻亞科 (Dolichoderinae) 的 3 個亞科為主。台灣農地中常見有害螞蟻可以依危害程度情況不同分為幾類型，直接造成農作物損失危害或間接危害農作的汙染農產品或與害蟲共生；及非對農作上的危害，如有害螞蟻直接螫咬農事人員、騷擾農事作業或造成農事設備的損壞等。

關鍵詞：有害螞蟻、果園、蟻科、農業危害

前言

螞蟻，是大家熟悉的昆蟲，但也因為對螞蟻的熟悉而往往會忽略其危害性，而當螞蟻的干擾影響足以造成人們在生活上或農業生產上困擾時，往往也已經是呈現無法控制現象。除分布在自然環境中，現

今有許多螞蟻種類已成功侵入與佔據人為的農業與都市環境中，在些螞蟻都是地球陸域生態系中是非常優勢的動物類群。有害螞蟻 (pest ant) 會造成人們不同程度的問題與影響，而不管是外來種螞蟻與原生種螞蟻都會有成為有害螞蟻的可能，但通常會是以外來螞蟻造成的問題與影響較

*論文聯繫人

E-mail: cclin@cc.ncue.edu.tw

大且嚴重。台灣螞蟥的害蟲地位往往會因於不同環境下，因人們所承受不同的危害程度而有不同的處理態度，有害螞蟥的影響通常會因為有害螞蟥發生地方而分為人為生態環境或都市生態環境 (urban ecosystem) 的有害螞蟥與農業生態環境 (agroecosystem) 中的有害螞蟥，而有不同的感受與之後的防治作為。都市生態環境中的有害螞蟥會與人們生活的空間重疊，而會因受螞蟥的螫咬造成膿疱甚至過敏反應、有些有害螞蟥會危害建築結構甚至電器設備、有些有害螞蟥是不受歡迎的入侵者造成居家環境騷擾或汙染食物等不同程度的危害，也因所造成人身與財產上損失不同，而使人們的防治策略有所不同所願花費的費用也差異很大。

農地有害螞蟥危害類型

台灣關於農業環境中有害螞蟥的問題，除目前已入侵台灣已超過十年的入侵紅火蟻 (*Solenopsis invicta*) 在台灣北部縣市農業環境與人為環境中的危害仍在持續中，同樣是外來螞蟥的熱帶火蟻 (*S. geminata*) 在台灣中南部、東部與離島仍是農地裡農民困擾的有害螞蟥。近年來陸續於一些地區的農民與居民反映出於果樹上與居家環境有特定的有害螞蟥，造成在農業作業耕作上的干擾與傷害，甚至已經影響到農產品的生產與水果品質上，這樣農作果樹蟻害的影響尤其以有機農業環境

更為明顯，疣胸琉璃蟻 (*Dolichoderus thoracicus*) 是最近被媒體報導最多，且對農民影響較為明顯的新興農作上有害螞蟥，危害的果園會在農地內有大量的螞蟥族群聚集且危害農地面積廣泛。農業生態上有害螞蟥可分為直接作物傷害，如有些農業報告指出有些有害螞蟥會直接危害作物果實；此外，有害螞蟥也會間接造成作物傷害，如畜養蚜蟲與介殼蟲等作物害蟲或污損果皮造成農業經濟損失，例如：柿子、酪梨、紅龍果、釋迦、木瓜、鳳梨、釋迦、楊桃、番石榴、柚子、柑橘、香蕉等數十種果樹，均有記錄有害螞蟥的直接或間接危害造成損失，而這些有害螞蟥除上述的疣胸琉璃蟻外，還包括：多樣擬大頭家蟻 (*Pheidologeton diversus*)、熱帶火蟻、日本皺家蟻 (*Tetramorium nipponense*)、黑棘蟻 (*Polyrhachis dives*)、長腳捷山蟻 (*Anoplolepis gracilipes*)、大頭家蟻屬種類 (*Pheidole* spp.)、舉尾蟻屬種類 (*Cremaatogaster* spp.)、扁琉璃蟻屬 (*Technomyrmex* spp.) 等數十種有害螞蟥種類，而這些於台灣農業環境具有危害的有害螞蟥也有絕大多數是外來螞蟥。另在居家環境 (農村) 有害螞蟥則有不受歡迎遭擾者、汙染作物、叮咬、引發過敏、危害結構與危害電器設備等危害項目。

螞蟥隸屬於昆蟲綱 (Insecta)、膜翅目 (Hymenoptera)、蟻科 (Formicidae)，目

前全球已知將近萬種的螞蟻中，目前全球已知將近萬種的螞蟻中，分別屬於 16 亞科、38 族、346 屬、14,064 種 (AntCat 2022)。世界上超過萬種螞蟻種類數量依次為家蟻亞科 (Myrmicinae)、山蟻亞科 (Formicinae)、針蟻亞科 (Ponerinae) 及琉璃蟻亞科 (Dolichoderinae) 等 4 大常見螞蟻亞科。台灣目前發現的 270 多種螞蟻，10 亞科、78 屬；其中以家蟻亞科種類最多約佔 52%，其次是山蟻亞科 21%，針蟻亞科 14%，琉璃蟻亞科 5%。目前於台灣農業生態環境中有 18 種常見有害螞蟻 (表一)，其中則以食性廣泛的雜食性家蟻亞科，偏好液態食物的山蟻亞科與琉璃蟻亞科 (Dolichoderinae) 的 3 個亞科為主，肉食性的針蟻亞科 (Ponerinae) 則較不會成為農地的有害螞蟻。台灣農業生態環境中常見有害螞蟻，可以依危害程度情況不同分為幾類型，直接危害農作物造成損失，或間接危害農作 (如：汙染農產品或與害蟲共生) 造成損失；及非對農作上造成危害，但有害螞蟻會直接攻擊螫咬農事人員、騷擾農事作業或造成農事設備的損壞等。

危害作物

農業生態上有害螞蟻直接造成作物傷害或危害作物幼芽、花苞及果實，主要以家蟻亞科中的熱帶火蟻、入侵紅火蟻與多樣寡家蟻，尤其是熱帶火蟻是目前台灣農地環境中最常直接造成農作損傷的有害螞蟻種類 (圖一)。

汙染農產品

除上述特定的少數種類 (火蟻與寡家蟻) 會直接害農作物外，大部分農業環境出現的螞蟻並不會對農作物造成傷害，這也是螞蟻一直以來都不是農業作物上的主要害蟲。近年來因為一些樹棲性螞蟻會大量築巢聚集於農作植栽或果實套袋中而造成污損果皮，引響水果品質價格造成農民的損失，疣胸琉璃蟻就是造成污損果皮的主要農地有害螞蟻 (圖一)。此外，熱帶火蟻、入侵紅火蟻、多樣寡家蟻、黑棘山蟻、褐色扁琉璃蟻、白足扁琉璃蟻都會造成不同果實及不同程度的汙損狀況。

表一、台灣農業生態環境中常見有害螞蟻及危害類型

Table 1. Common species of pest ants and their types of damages in Taiwan' s agricultural ecological environment.

亞科	屬	種	危害作物	汙損農產品	害蟲共生	螫咬	騷擾	危害設備
家蟻亞科 Myrmicinae	火家蟻屬 <i>Solenopsis</i>	熱帶火蟻 <i>Solenopsis geminata</i>	●	●	●	●		
		入侵紅火蟻 <i>Solenopsis invicta</i>	●	●	●	●		●
	舉尾蟻屬 <i>Crematogaster</i>	懸巢舉尾家蟻 <i>Crematogaster rogenhoferi</i>			●	●	●	
		勤勉舉尾家蟻 <i>Crematogaster nawai</i>			●		●	
	單家蟻屬 <i>Monomorium</i>	中華單家蟻 <i>Monomorium chinense</i>			●	●	●	
		花居單家蟻 <i>Monomorium floricola</i>			●	●	●	
	大頭家蟻屬 <i>Pheidole</i>	熱帶大頭家蟻 <i>Pheidole megacephala</i>			●	●	●	
		褐大頭家蟻 <i>Pheidole parva</i>			●	●		
	寡家蟻屬 <i>Carebara</i>	多樣寡家蟻 <i>Carebara diversa</i>	●		●	●	●	
	皺家蟻屬 <i>Tetramorium</i>	日本皺家蟻 <i>Tetramorium nipponense</i>			●			
山蟻亞科 Formicinae	棘山蟻屬 <i>Polyrhachis</i>	黑棘山蟻 <i>Polyrhachis dives</i>		●	●	●	●	●
	捷山蟻屬 <i>Anoplolepis</i>	長腳捷山蟻 <i>Anoplolepis gracilipes</i>			●		●	

	黃山蟻屬 <i>Paratrechina</i>	長角黃山蟻 <i>Paratrechina longicornis</i>			●		●	
	巨山蟻屬 <i>Camponotus</i>	臭巨山蟻 <i>Camponotus habereri</i>			●	●	●	
琉璃蟻亞科 Dolichoderinae	琉璃蟻屬 <i>Dolichoderus</i>	疣胸琉璃蟻 <i>Dolichoderus thoracicus</i>		●	●	●	●	●
	扁琉璃蟻屬 <i>Technomyrmex</i>	褐色扁琉璃蟻 <i>Technomyrmex brunneus</i>		●	●		●	
		白足扁琉璃蟻 <i>Technomyrmex albipes</i>		●	●		●	
	慌琉璃蟻屬 <i>Tapinoma</i>	黑頭慌琉璃蟻 <i>Tapinoma melanocephalum</i>			●		●	



圖一、農地有害蟻熱帶火蟻直接危害紅龍果(左)·疣胸琉璃蟻汙染柿子(右)。

Fig. 1. Pest ants in agricultural land, *Solenopsis geminata* directly causing damage to dragon fruit (left), *Dolichoderus thoracicus* polluting persimmon (right).

害蟲共生

台灣農地環境中的螞蟻共生畜養蚜蟲與介殼蟲等會分泌蜜露的農業害蟲，應該是農地有害螞蟻最主要也最為廣泛對農作物間接性的危害，且出現在農地環境中的有害螞蟻幾乎都會與會分泌蜜露作物害蟲共生。其中又以疣胸琉璃蟻、黑棘山蟻、舉尾蟻種類、扁琉璃蟻種類、火蟻類、長腳捷山蟻、大頭家蟻種類等螞蟻種類，為主要與共生害蟲形成較緊密的共生關聯，會協助共生害蟲避敵、移動、協助建立遮蔽所等行為 (圖二)。

螫咬

農地有害螞蟻主要會活動與聚集在於作物植栽上，並且會將蟻巢築在作物植栽上或農地環境的地表。因此農民在田間作業期間尤其是在採收期便會遭這些有害螞蟻的螫咬，家蟻亞科種類 (火蟻、舉尾蟻、單家蟻、大頭家蟻、寡家蟻等) 因為具有發達螫針且工蟻數量較多，因此農民最常會被這些具螫針的有害螞蟻螫咬，其中尤其以入侵紅火蟻造成的威脅最為嚴重，其次是熱帶火蟻 (圖二)。不具螫針的山蟻亞科與琉璃蟻亞科種類雖不會因為螫針螫刺造成疼痛，但仍具有毒腺會以噴灑毒液的進行防禦與攻擊，因此也會造成農民於田間作業上的威脅。



圖二、農地有害螞蟻疣胸琉璃蟻與介殼蟲共生 (左)，被熱帶火蟻螫咬 (右)。

Fig. 2. Pest ants in agricultural land, *Dolichoderus thoracicus* forms symbiotic relationship with scale insects (left), bitten by *Solenopsis geminata* (right).

騷擾

農地有害螞蟻對於農事作業騷擾主要仍是因為螞蟻活動、聚集在於作物植栽上，也築巢於農地環境中，因此當大量的螞蟻出現在植栽作物上或地表時，或聚集築巢在一些農事設施與果實套袋中，往往會造成農事作業上的困擾，其中又以疣胸琉璃蟻、黑棘山蟻、舉尾蟻種類、扁琉璃蟻等螞蟻種類為主 (圖三)。有些有害螞蟻種類 (如：單家蟻種類、黑頭慌琉璃蟻、

長角黃山蟻及長腳捷山蟻)，雖攻擊人的風險小，但當大量出現於植栽或農地環境中仍是會干擾到農事作業。

危害設備

部分農地有害螞蟻 (入侵紅火蟻、疣胸琉璃蟻及黑棘山蟻) 會大量聚集或將蟻巢築巢於農業環境的一些設備內，尤其是電力設備相關如電表、變壓器、開關等，非常容易造成設備損壞與停電事故，嚴重更會造成安全上的問題 (圖三)。



圖三、農地有害螞蟻褐色扁琉璃蟻聚集於果實套袋中 (左)，疣胸琉璃蟻危害設備 (右)。

Fig. 3. Pets ants in agricultural land, *Technomyrmex brunneus* gathered in the fruit bag (left), and *Dolichoderus thoracicus* cause damage to equipment (right).

農地有害螞蟻鑑定與分類

螞蟻隸屬於昆蟲綱 (Insecta)、膜翅目 (Hymenoptera)、蟻科 (Formicidae)，目前全球已知將近萬種的螞蟻中，目前全球

已知將近萬種的螞蟻中，分別屬於 16 亞科、38 族、346 屬、14,064 種 (AntCat, 2022)。世界上超過萬種螞蟻種類數量依次為家蟻亞科 (Myrmicinae)、山蟻亞科 (Formicinae)、針蟻亞科 (Ponerinae) 及

琉璃蟻亞科 (Dolichoderinae) 等 4 大常見螞蟻亞科。台灣目前發現的 270 多種螞蟻，10 亞科、78 屬；其中以家蟻亞科種類最多約佔 52%，其次是山蟻亞科 21%，針蟻亞科 14%，琉璃蟻亞科 5%。

屬於膜翅目昆蟲的螞蟻，外部可區分為頭部 (head)、中軀部 (mesosoma)、腹柄部 (abdominal pedicel) 與腹錘部 (gaster) 等 4 大部分，中軀部是由昆蟲形態上的胸部與前伸腹節 (propodeum，腹部第 1 節) 所組成，這是膜翅目昆蟲共同的特徵。

腹柄部或稱腰部 (waist) 則是區別螞蟻與其他膜翅目蜂類主要的形態分類特徵，螞蟻在中軀部後有 1 或 2 節縮小的腹柄部稱腹柄節 (petiole，腹部第 2 節) 與後腹柄節 (postpetiole，腹部第 3 節)，這是區分螞蟻和其他昆蟲最簡單的特徵分類。而依據腹柄部 (腰部) 的節數特徵又可分為腹柄部 1 節 (只有腹柄節) 的山蟻亞科、針蟻亞科及琉璃蟻亞科種類，與腹柄部 2 節 (腹柄節與後腹柄節) 的家蟻亞科及擬家蟻亞科種類。

腹柄部 1 節的螞蟻類群，可再依據腹部末端螫針 (sting) 或酸腺孔 (acidopore) 的有無分為有螫針的針蟻亞科種類、螫針退化具管狀酸腺孔的山蟻亞科、和螫針退化具縫狀開口的琉璃蟻亞科。螞蟻足上跗節爪 (tarsal claw) 的型態是分辨家蟻亞科和擬家蟻亞科種類的重要

特徵。

螞蟻種類會再依據頭部的頭楯 (clypeus) 型態、觸角 (antenna) 節數、觸角錘節 (club) 節數、大顎 (mandible) 型態；中軀部的前胸背板 (pronotum)、中胸背板 (mesonotum) 的型態、後胸背板溝 (metanotal groove) 的有無、前伸腹節刺 (propodeal spine) 的有無；腹柄部的形狀等重要特徵加以分類。

螞蟻的觸角呈膝狀，職蟻和蟻后的觸角節數在 4 節到 12 節之間，雄蟻的節數多為 13 節。觸角以觸角關節著生於觸角窩 (antennal socket) 中，觸角第一節稱為柄節 (scape)，末端幾節會較長膨大稱為錘節 (club)。火家蟻屬 (*Solenopsis*) 和寡家蟻屬 (*Carebara*) 具有觸角錘節 2 節的特徵，和其他家蟻類群觸角錘節有 3 節明顯不同。而同樣有錘節 2 節的寡家蟻其觸角節數是 11 節，可與觸角節數 10 節的火家蟻區分。

螞蟻的頭楯 (clypeus) 位於觸角窩與大顎之間的較寬的部分，在頭楯前緣具有頭楯中齒 (clypeal teeth) 或頭楯側齒 (lateral clypeal teeth)，並著生頭楯中毛 (median clypeal seta) 或頭楯側毛 (lateral clypeal seta)。台灣農地常見的入侵紅火家蟻 (*Solenopsis invicta*) 便是根據頭楯上有頭楯中齒作為鑑定依據，與無頭楯中齒的熱帶火家蟻 (*Solenopsis geminata*) 區分開來。

螞蟻的中軀部由前胸、中胸、後胸和前伸腹節（腹部第一節）所組成，後胸因為前伸腹節的向前擠壓而較不明顯，後胸背板多退化為後胸背板溝。在觸角錘節 3 節的家蟻類群中，單家蟻屬 (*Monomorium*) 種類的前伸腹節呈圓弧狀，無刺或齒，明顯與大頭家蟻屬 (*Pheidole*)、皺家蟻屬 (*Tetramorium*) 種類不同。皺家蟻的前中胸背板 (promesonotum) 平順，而大頭家蟻的前中胸背板明顯隆起凸出，是簡單區分這兩類螞蟻的特徵。舉尾蟻屬 (*Crematogaster*) 種類大部分為樹棲型，因此容易在樹上發現，其腹柄節筒狀無丘部 (node)，是主要的分類特徵。

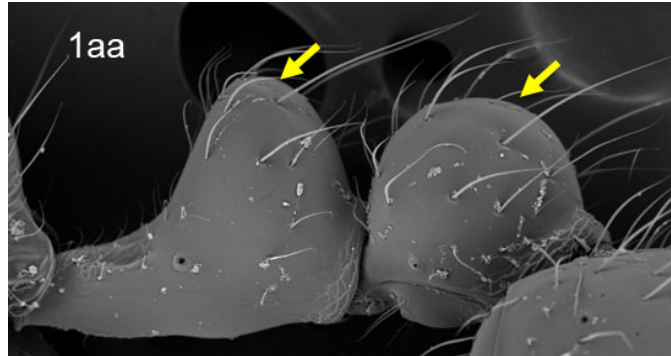
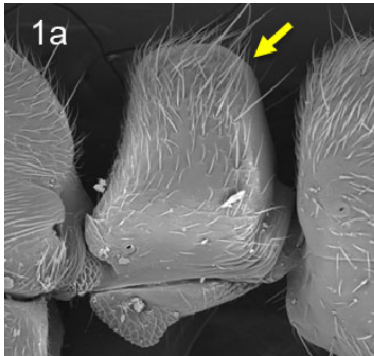
台灣農地常見的長腳捷山蟻 (黃狂蟻) (*Anoplolepis gracilipes*) 觸角節數為 11 節，與觸角 12 節的長角黃山蟻 (狂蟻、小黑蟻) (*Paratrechina longicornis*) 除了體色上的不同外，還可經由觸角節數鑑定確認。黑棘山蟻 (*Polyrhachis dives*) 的中軀

部或腹柄部具刺，也很容易與體表平順無刺的臭巨山蟻 (*Camponotus habereri*) 做區分。

常見的琉璃蟻大部分體色都是黑色的，依據腹柄節形狀可分為腹柄節筒狀的扁琉璃蟻屬 (*Technomyrmex*)、慌琉璃蟻屬 (*Tapinoma*) 種類，與腹柄節鱗片狀有明顯丘部的疣胸琉璃蟻 (*Dolichoderus thoracicus*)。黑頭慌琉璃蟻 (*T. melanocephalum*) 體色為雙色，頭與腹錘 (gaster) 為黑褐色，中軀部為淡黃色，其前中胸背板平順、後胸背板溝凹陷不明顯為與扁琉璃蟻區分的主要分類特徵。台灣常見的扁琉璃蟻有 2 種：褐色扁琉璃蟻 (*T. brunneus*) 和白足扁琉璃蟻 (*T. albipes*)，2 個種類的外部型態非常相似，主要在大顎外緣 (mandible external margin) 有無縱溝為分類特徵，褐色扁琉璃蟻的大顎外緣具有一縱溝，而白足扁琉璃蟻則大顎平順無凹陷。

台灣農地有害螞蟻亞科之檢索 (亞科)

1. 中軀與腹錘間有一節明顯的腰節 (腹柄節) (1a) ----- 2
- 中軀與腹錘間有二節明顯腰節 (腹柄節與後腹柄節) (1aa) ----- 家蟻亞科 Myrmicinae

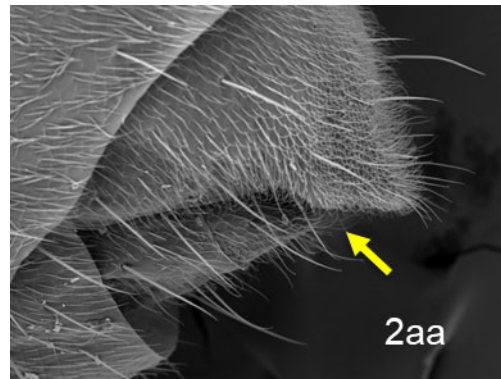
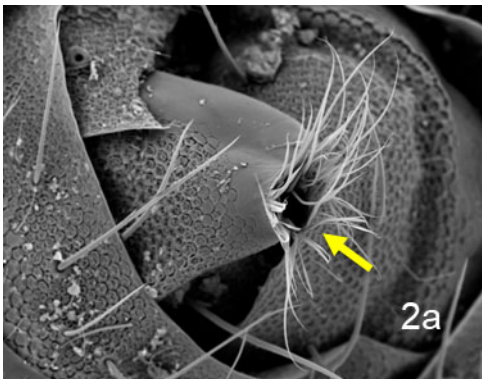


2. 腹柄節為鱗片狀；腹錘末端有一半圓形或圓形的酸腺孔，常呈管狀突出，上著生剛毛 (2a)

----- 山蟻亞科 Formicinae

- 腹柄節為管狀；腹錘末端無管狀酸腺孔，呈縫狀開口 (2aa)

----- 琉璃蟻亞科 Dolichoderinae



台灣農地琉璃蟻亞科種類之檢索

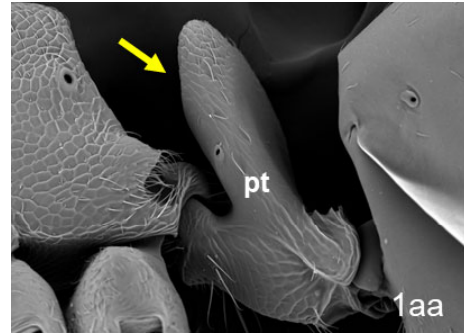
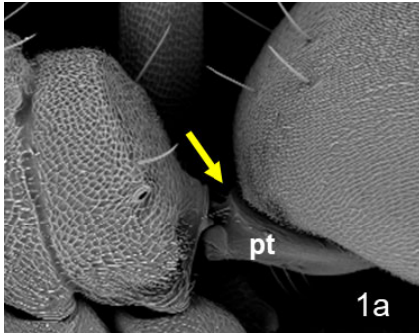
(屬、種)

1. 腹柄節 (pt) 側面觀無丘部呈筒狀 (1a); 由背面觀腹柄節被腹錘遮住不可見 -----

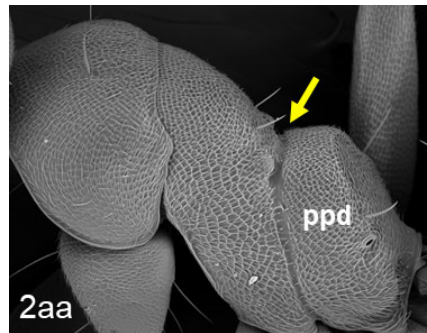
2

- 腹柄節 (pt) 側面觀丘部呈鱗片狀 (1aa); 由背面觀腹柄節不被腹錘遮住 -----

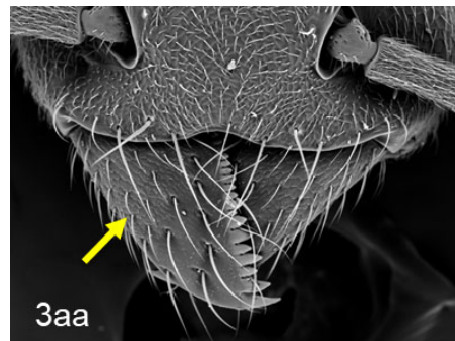
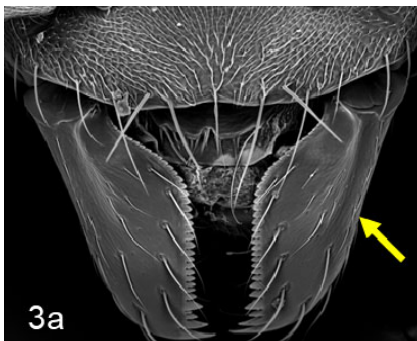
----- 琉璃蟻屬 *Dolichoderus* (疣胸琉璃蟻 *Dolichoderus thoracicus*)



2. 後胸背板溝退化或微凹 (2a) ; 前中胸背板平順隆起不明顯-----
 ----- 慌琉璃蟻屬 *Tapinoma* (黑頭慌琉璃蟻 *Tapinoma melanocephalum*)
 - 後胸背板溝明顯且深 (2aa) ; 前中胸背板隆起明顯 -----
 ----- 扁琉璃蟻屬 *Technomyrmex* 3



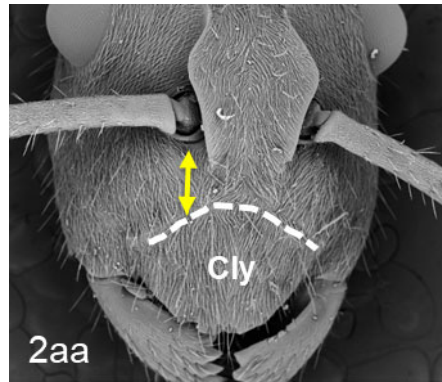
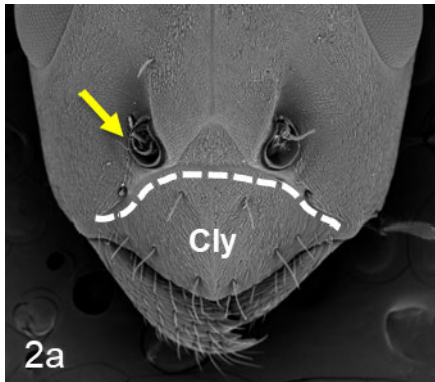
3. 大顎外緣有一縱溝 (3a) ----- 褐色扁琉璃蟻 *Technomyrmex brunneus*
 - 大顎平順無縱溝 (3aa) ----- 白足扁琉璃蟻 *Technomyrmex albipes*



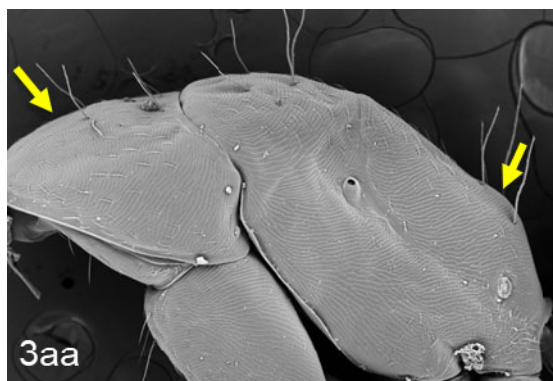
台灣農地山蟻亞科種類之檢索

(屬、種)

1. 觸角 11 節 ----- 捷山蟻屬 *Anoplolepis* (長腳捷山蟻 *Anoplolepis gracilipes*)
 - 觸角 12 節 ----- 2
2. 觸角窩接近頭楯 (cly) 後緣 (2a) ----- 山蟻屬 *Paratrechina* (長角黃山蟻 *Paratrechina longicornis*)
 - 觸角窩遠離頭楯 (cly) 後緣 (2aa) ----- 3



3. 中軀部或腹柄節具刺或齒 (3a) ----- 棘山蟻屬 *Polyrhachis* (黑棘山蟻 *Polyrhachis dives*)
 - 中軀部或腹柄節無刺或齒 (3aa) ----- 巨山蟻屬 *Camponotus* (臭巨山蟻 *Camponotus habereri*)

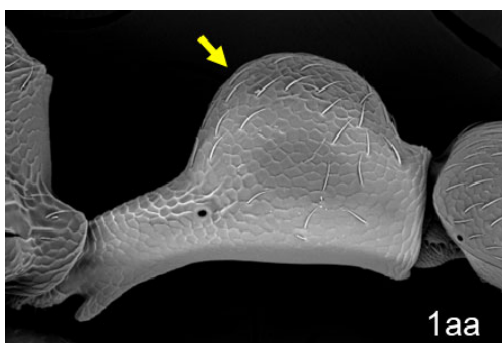
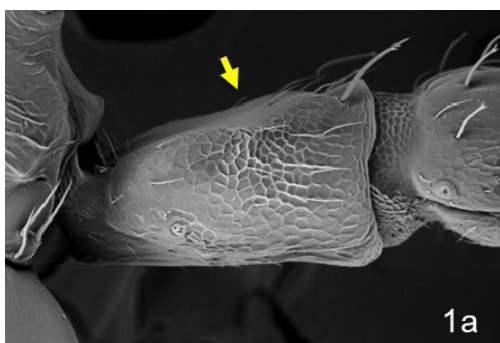


台灣農地家蟻亞科種類之檢索

(屬、種)

1. 腹柄節筒狀無明顯丘部 (1a) ----- 舉尾家蟻屬 *Crematogaster* 2

- 腹柄節有明顯丘部 (1aa) ----- 3

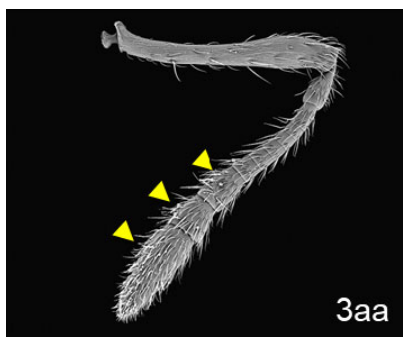
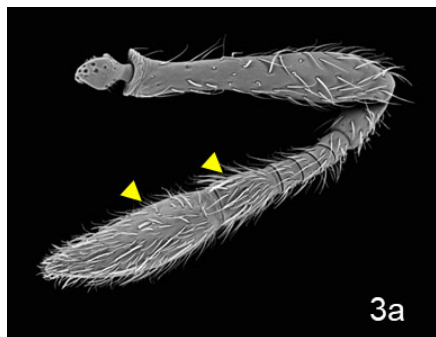


2. 頭蓋光滑無明顯刻紋 ----- 勤勉舉尾家蟻 *Crematogaster nawai*

- 頭蓋明顯直條紋刻紋 ----- 懸巢舉尾家蟻 *Crematogaster rogenhoferi*

3. 觸角錘節由 2 節組成 (3a) ----- 4

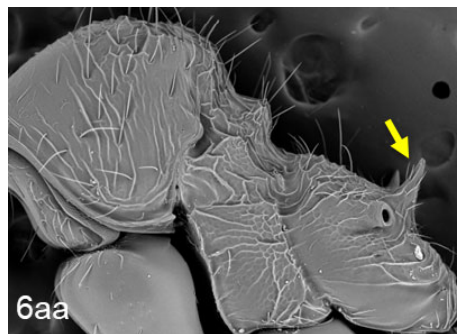
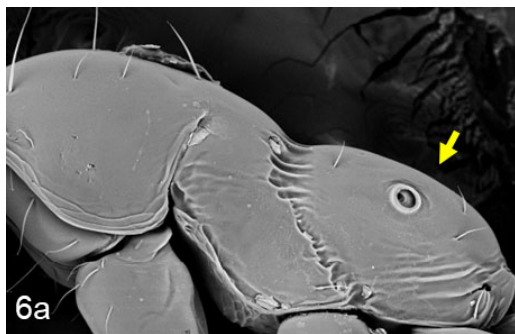
- 觸角錘節由 3 節組成 (3aa) ----- 6



4. 觸角 10 節 ----- 火家蟻屬 *Solenopsis* 5
- 觸角 11 節 ----- 寡家蟻屬 *Carebara* (多樣寡家蟻 *Carebara diversa*)

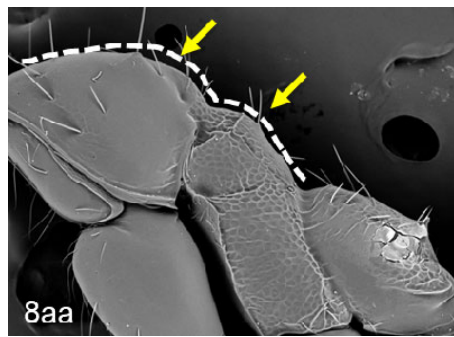
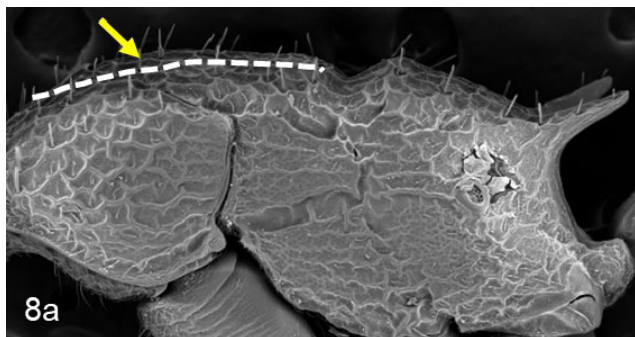
5. 有頭楯中齒 ----- 入侵紅火蟻 *Solenopsis invicta*
- 無頭楯中齒 ----- 熱帶火蟻 *Solenopsis geminata*

6. 前伸腹節無齒，呈圓弧狀 (6a) ----- 單家蟻屬 *Monomorium* 7
- 前伸腹節有齒(6aa) ----- 8



7. 體色單色呈褐色 ----- 中華單家蟻 *Monomorium chinense*
- 體色雙色，頭與腹錘呈褐色，中軀部呈黃色 ----- 花居單家蟻 *Monomorium floricola*

8. 側面觀前中胸背板平順無隆起 (8a) ----- 皺家蟻屬 *Tetramorium*
(日本皺家蟻 *Tetramorium nipponense*)
- 側面觀前中胸背板隆起凸出，中胸背板呈小隆起於後胸背板溝之前 (8aa) -----
----- 大頭家蟻屬 *Pheidole* 9



9. 頭和中軀部明顯點刻狀刻紋 ----- 褐大頭家蟻 *Pheidole parva*
 - 頭和前胸背板光滑無明顯刻紋 ----- 熱帶大頭家蟻 *Pheidole megacephala*

附錄一

台灣農業生態環境中常見有害螞蟥

家蟻亞科 (Myrmicinae)



入侵紅火蟻 (*Solenopsis invicta*)



熱帶火蟻 (*Solenopsis geminate*)



熱帶大頭家蟻 (*Pheidole megacephala*)



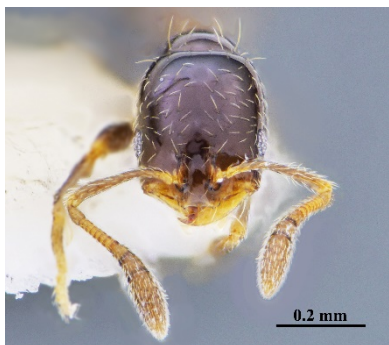
褐大頭家蟻 (*Pheidole parva*)



多樣寡家蟻 (*Carebara diversa*)



日本皺家蟻 (*Tetramorium nipponense*)



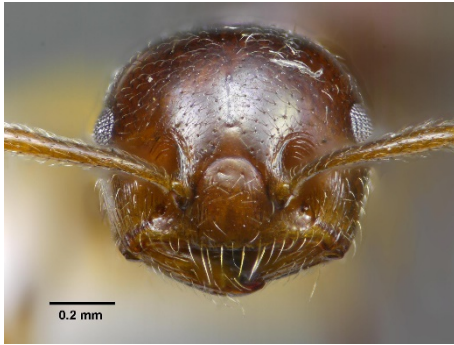
中華單家蟻 (*Monomorium chinense*)



花居單家蟻 (*Monomorium floricola*)



懸巢舉尾蟻 (*Crematogaster rogenhoferi*)



勤勉舉尾家蟻 (*Crematogaster nawai*)

山蟻亞科 (Formicinae)



長腳捷山蟻 (*Anoplolepis gracilipes*)



長角黃山蟻 (*Paratrechina longicornis*)



黑棘蟻 (*Polyrhachis dives*)



臭巨山蟻 (*Camponotus habereri*)

琉璃蟻亞科 (*Dolichoderinae*)



疣胸琉璃蟻 (*Dolichoderus thoracicus*)



褐色扁琉璃蟻 (*Technomyrmex brunneus*)



白足扁琉璃蟻 (*Technomyrmex albipes*)



黑頭慌琉璃蟻 (*Tapinoma melanocephalum*)

參考文獻

林宗岐。2005。海島上的蟲蟲危機。科學月刊 36: 2–8。

林宗岐。2015。外來入侵螞蟥。生態學會季刊 46: 50–57。

林宗岐、吳文哲。2003。台灣螞蟥相 (膜翅目：螞蟥科)。附亞科與屬檢索表。國立台灣博物館年刊 46: 5–69。

Colautti, R. and D. Richardson. 2009. Subjectivity and flexibility in invasion terminology: too much of a good thing? Biol. Invas. 11: 1225–1259.

Cuc, N. T. T. and P. Van Mele. 1999. Beneficial effects of black ants (*Dolichoderus thoracicus* Smith) in sapodilla production in Vietnam. In: Loke WH, Sastroutomo SS. (Eds.) Symposium on Biological Control in the Tropics, Serdang, Malaysia. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 29–33.

Currie, C. R. and A. E. Stuart. 2001. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 268: 1033–1039.

Della Lucia, T. M., L. C. Gandra, and R.N. Guedes. 2014. Managing

leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. Pest management science 70: 14–23.

Donisthorpe, H. 1932. On the identity of Smith's types of Formicidae (Hymenoptera) collected by Alfred Russell Wallace in the Malay Archipelago, with descriptions of two new species. Ann. Mag. Nat. Hist. 10: 441–476.

Emery, C. 1887. Catalogo delle formiche esistenti nelle collezioni del Museo Civico di Genova. Parte terza. Formiche della regione Indo-Malese e dell'Australia (continuazione e fine). Ann. Mus. Civ. Stor. Nat. 25: 433–448.

Emery, C. 1913. Hymenoptera. Fam. Formicidae. Subfam. Dolichoderinae. Genera Insectorum 137: 1–50.

Jeschke, J. M. and D. L. Strayer. 2005. Invasion success of vertebrates in Europe and North America. Proc. Nat. Acad. Sci. 102: 7198–7202.

Jeschke, J. M. and D. L. Strayer. 2006. Determinants of vertebrate invasion success in Europe and North America. Glob. Chang. Biol. 12: 1608–1619.

Kettunen, M., P. Genovesi, S. Gollasch,

- S. Pagad, U. Starfinger, P. ten Brink, and C. Shine. 2009.** Technical support to EU strategy on invasive alien species (IAS) – Assessment of the impacts of IAS in Europe and the EU. Institute for European Environmental Policy (Brussels, Belgium): 1–44 + Annexes.
- Khoo, K. C. and C. T. Ho. 1992.** The influence of *Dolichoderus thoracicus* (Hymenoptera: Formicidae) on losses due to *Helopeltis theivora* (Heteroptera: Miridae), black pod disease, and mammalian pests in cocoa in Malaysia. *Bull. Entomol. Res.* 82: 485–491.
- Kanzok, S. M. and M. Jacobs-Lorena. 2006.** Entomopathogenic fungi as biological insecticides to control malaria. *Trends in parasitology* 22: 49–51.
- Knight, R. L. and M. K. Rust. 1990.** Repellency and efficacy of insecticides against foraging workers in laboratory colonies of Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 83: 1402–1408.
- Kolar, C. S. and D. M. Lodge. 2001.** Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trend. Ecol. Evol.* 16: 199–204.
- Lord, J. C. 2005.** From Metchnikoff to Monsanto and beyond: The path of microbial control. *Journal of invertebrate pathology* 89: 19–29.
- Lowe, S. 2000.** 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the Global Invasive Species Database <http://www.issg.org/database>. The Invasive Species Specialist Group (ISSG) New Zealand.
- Maschwitz, U., K. Dumpert, T. Botz, and W. Rohe. 1991.** A silk-weaving dolichoderine ant in a Malaysian rain forest. *Insect. Soc.* 38: 307–316.
- McGlynn, T. P. 1999.** The worldwide transfer of ants: geographical distribution and ecological invasions. *J. Biogeog.* 26: 535–548.
- Pimentel, D, R. Zuniga, and D. Morrison. 2005.** Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecol. Econ.* 52: 273–288.
- Rust, M. K., K. Haagsma, and D. A.**

- Reierson. 1996.** Reierson, Barrier sprays to control Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of economic entomology*, 89: 134–137.
- Schmid-Hempel, P. 1995.** Parasites and social insects. *Apidologie*, 26: 255–271.
- Shattuck, S. O. 1994.** Taxonomic catalog of the ant subfamilies Aneuretinae and Dolichoderinae (Hymenoptera: Formicidae). *Univ. Calif. Publ. Entomol.* 112: i-xix, 1–241. (page 70, Senior synonym of *bituberculatus* (and its junior synonym *sellaris*))
- Smith, F. 1860.** Descriptions of new species of hymenopterous insects collected by Mr. A. R. Wallace at Celebes. *J. Proc. Linn. Soc. Lond. Zool.* 5: 57–93. (suppl. to vol. 4)
- Smith, F. 1860a.** Descriptions of new species of hymenopterous insects collected by Mr. A. R. Wallace at Celebes. *J. Proc. Linn. Soc. Lond. Zool.* 5(17b)(suppl. to vol. 4 4: 57–93 (page 69, worker described)
- Suarez, A. V., T. P. McGlynn, and N. D. Tsutsui. 2010.** Biogeographic and taxonomic patterns of introduced ants. in: *Ant Ecology*, Lach L, Abbott K, Parr K., eds., Oxford University Press, pp. 233–244.
- Van Mele P. and N. T. T. Cuc. 2001.** Farmers' perceptions and practices in use of *Dolichoderus thoracicus* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) for biological control of pests of sapodilla. *Biol. Control.* 20: 23–29.
- Ward D. F., J. R. Beggs, M. N. Clout, R. J. Harris, and S. O'Connor. 2006.** The diversity and origin of exotic ants arriving in New Zealand via human-mediated dispersal. *Diversity Distrib.* 12: 601–609.
- Way M. J. and K. C. Khoo. 1991.** Colony dispersion and nesting habits of the ants, *Dolichoderus thoracicus* and *Oecophylla smaragdina* (Hymenoptera: Formicidae) in relation to their success as biological control agents on cocoa. *Bull. Entomol. Res.* 81: 341–350.
- Wittenborn D and J. M. Jeschke. 2011.** Characteristics of exotic ants in North America. *NeoBiota* 10: 47–64.

Taxonomy and Identification of Agricultural Pest Ant in Taiwan

Chung-Chi Lin^{1,*} and Fu-Ya Chung¹

¹Department of Biology, National Changhua University of Education, Changhua, Taiwan

Abstract

Recently, due to the invasion of alien ants, environmental changes and changes of Taiwan's agricultural farming patterns, the problem of pest ants in agricultural land has gradually escalated from a small-area individual case problem to a large-scale damage to agriculture sector, and even gradually have become a general epidemic. The pest status of ants in Taiwan always depends on the environment or location of pest outbreak, where people having different attitude in dealing with pest problems due to the different degrees of damage incurred. According to the location of pest outbreaks, pest ants usually can be divided into pest ants occurred in urban ecosystem and pest ants occurred in agroecosystem, which can lead to different tolerance levels and subsequent control actions. Currently, there are 18 common species of pest ants in Taiwan's agricultural ecological environment, and majority of species belong to the three subfamilies, i.e., Myrmicinae (omnivorous), Formicinae and Dolichoderinae (preferred liquid food). Pest ants commonly found in agricultural land in Taiwan can be divided into several types according to their degree of damage, i.e., directly causing damage to crops or indirectly causing damage to crops (e.g., polluting agricultural products) or coexisting with other pests; didn't cause damage to crops itself, such as directly biting agricultural personnel, interfering agricultural operations or causing damage to agricultural equipment, etc.

Key words : Pest Ant, Orchard, Formicidae, Agricultural damage

*Corresponding author.

E-mail: cclin@cc.ncue.edu.tw

鱗翅目有害生物鑑識的現況與挑戰

顏聖紘^{1,*}

¹ 國立中山大學生物科學系。台灣 高雄市。

摘要

由於物種及其與植物及真菌關係的多樣性，鱗翅目昆蟲在台灣農業有害生物中佔有相當龐大的比例，而這也為鑑識工作帶來巨大的挑戰。本文根據文獻分析、農委會歷年計畫成果與近年研究案例歸納出如下造成鑑識工作困難的原因：(1) 農業昆蟲學與系統分類學在台灣長期以來是兩個相關但交集不多的領域，因此農業文獻中經常出現早已不再使用的同物異名或錯誤拼寫學名影響資訊流通；(2) 農業昆蟲學領域習慣使用作物命名害蟲，造成同一種昆蟲具有多重中名，而同一個中名卻未必指涉同一物種；(3) 農業文獻系統中累積了大量未經修訂但被廣泛運用的錯誤資訊；(4) 許多物種的危害紀錄缺乏引證標本難以核實；(5) 幼蟲形態對物種層級鑑定的應用性有限；(6) GenBank 與 CBOL 中的 DNA 序列亦經常缺乏引證標本以供核實因此未必能輔助鑑識；(7) 高多樣性類群的形態與序列資訊不足因此無法提供有效鑑識；(8) 僅靠 COI 序列無法鑑識科級分類歸屬；(9) 完整的形態、生態與序列資訊僅限於中大型物種；以及 (10) 檢索系統的可用性限用於歐美與日本，而廣大的東亞與東南亞地區至今缺乏根據最新分類體系所建立的檢索系統。我因此建議有關單位應對具中高入侵與危害風險的分類群及其近緣或相似類群進行完整的形態、DNA 序列以及生態棲位資訊盤點與收集，根據最新分類資訊訂正所有農業文獻中的鱗翅目物種學名、建立一個適用於台灣與鄰近地區的幼蟲與成蟲形態檢索表，並與寄主利用方式搭配，始能改善從鑑識到防治端的困境。

關鍵詞：系統分類、外來入侵種、生命條碼、形態鑑識、幼生期

*論文聯繫人

E-mail: shenhornyen@mail.nsysu.edu.tw

Current Status and Challenges of Identification of Lepidopteran Pests in Taiwan

Shen-Horn Yen^{1,*}

Department of Biological Sciences, National Sun Yat-Sen University, Kaohsiung city,
Taiwan, ROC.

Abstract

Due to the high diversity in species richness and the relationships with plants and fungi, lepidopteran insects occupy a relatively large proportion of the agricultural pest species in Taiwan, and this has also brought challenges in identification. The present article attempts to summarize the reasons making species identification difficult according to an integration from literature, projects reports sponsored by COA and case studies in recent years: (1) although agricultural and systematic entomology are two fields that are relevant to each other, these two areas, however, have been poorly collaborated. Numerous synonyms and mis-spelt names have therefore been circulated and caused problems in communication; (2) many species have multiple Chinese names based on their hostplants, but one insect name can also represent multiple species; (3) numerous uncorrected names have been accumulated in agricultural literature and widely used; (4) voucher specimens of some species are often lacking so verification of the identity is difficult; (5) the use of larval morphology for species identification is limited; (6) sequence information from GenBank and CBOL is often not associated with voucher specimens, which are expected to

*Corresponding author.

E-mail: shenhornyen@mail.nsysu.edu.tw

assist in verification ; (7) either morphological or sequence data of speciose groups is insufficient for effective identification ; (8) species identification based on COI sequence alone is not necessarily accurate; (9) complete information is confined to larger species ; and (10) the identification keys based on the most recent classification is more applicable for the fauna of Europe, N. America and Japan, but not for E. and SE. Asia. I therefore strongly suggest that the authorities concerned should start a survey for the morphology, DNA sequences and ecological niche of the species and the relatives that have medium and high risks regarding invasiveness and agricultural damage. An updated checklist of the lepidopteran pests according to the most recent classification system should be prepared. Moreover, an identification key suitable for Taiwan and the surrounding areas should be constructed and integrated with host utilization in order to fill the gap from species identification to control and managements.

Key Words: Systematics, Invasive Species, Barcode of Life, Morphological identification, Immature Stages

昆蟲分類在檢疫有害生物的應用-以鞘翅目為例

李奇峯^{1,*}

¹ 行政農業委員會農委會農業試驗所應用動物組。台灣 台中市。

摘要

鞘翅目為昆蟲裡種類多樣性最高的其中一目，防檢單位所檢疫到的鞘翅目的案件頗多，但最難解的是突發事件，如族群大爆發、出現新紀錄害蟲及已紀錄的害蟲有疑慮；本文以鞘翅目為案例來說明昆蟲分類在此類案件處置的角色

關鍵詞：變斑肥腳金花蟲、琉璃粗腿金花蟲、光蠟瘦吉丁蟲、朴樹、山葛、光蠟樹

前言

近年來由於運輸業及旅遊業發達，每年從防檢疫單位送檢鑑定的鞘翅目標本多達 40-60 件，其中以原木（木材）、水果、花卉、植株活體、及乾燥穀物較容易發現甲蟲的蹤跡，而原木發現的甲蟲最多，大多屬於天牛科 (Cerambycidae)、細扁甲科 (Silvanidae)、三錐象鼻蟲 (Brentidae)、小蠹蟲 (Curculionidae: Scolytinae)、擬步行蟲 (Tenebrionidae)、長蠹蟲 (Bostrichidae)等；水果及花卉較常出現瓢蟲

(Coccinellidae)及姬薪蟲 (Latridiidae)；乾燥穀物則以出尾蟲 (Nitidulidae)、豆象 (Chrysomelidae: Bruchinae) 及象鼻蟲科 (Curculionidae)；以上的案件都是由防檢單位檢出，是可防控的。最難解的問題是出現預期外的狀況，例如某種甲蟲突然大爆發，卻非台灣已知種類，如何在短時間內提供訊息給媒體，後續又該如何處理；又如在台灣突然出現一種新紀錄的害蟲，分類研究如何協助此案件；或如台灣已紀錄的害蟲紀錄有疑問時，該如何協助解決；以下將就這些狀況以研究案件來說明。

*論文聯繫人

E-mail: Chifeng@tai.gov.tw

蟲蟲大爆發造成民眾的疑慮

自古以來天氣變化莫測，有時候剛好某一年的氣候適合某類昆蟲的生長與繁殖，而造成數量的大量增加，造成民眾的疑慮；例如下面這則新聞報導：

蟲蟲大軍來襲！民眾注意到近日樹上、路邊甚至家中出現大量小瓢蟲，數量之大相當嚇人，也擔心這些蟲類可能影響地區生態。縣府產業發展處表示，這種瓢蟲正確學名尚待查證，根據多年觀察結果並不會對環境造成破壞，但今年數量確實比往年多，可能與氣候變異有關。產發處表示，近日出現的小瓢蟲，過去幾年產發處就有觀察，牠們野外以樹葉為主食，但今年數量過多，而去吃瓜類葉子，農民可於田間使用農藥驅蟲；這種瓢蟲壽命短，等過一陣子天氣炎熱瓢蟲就會死亡消失，若進行大規模噴灑殺蟲劑，反而造成生態環境破壞。產發處同時表示，已知台灣沒有類似這樣瓢蟲大規模繁殖現象，這些瓢蟲是何種類，馬祖並無記錄，已交由桃園農業改良場專家鑑定，產發處也會持續觀察這些瓢蟲暴增成因與對環境影響。

2017年6月7日馬祖日報

昆蟲樣本由桃園農業改良場緊急寄過來鑑定，然以現有的資訊只能確認該甲蟲是金花蟲科 (Chrysomelidae)、金花蟲亞科 (Chrysomelinae)、肥腳金花蟲屬 (*Goniocтена*) 的種類，於是提供前述資料給

對方，不過當中有兩點是有問題的，「金花蟲」這個名稱對大多數民眾來說還是很陌生的，因此發稿單位就選用「瓢蟲」以親近讀者；此外，報導中說取食瓜類作物的葉子也不正確，可能是當時金花蟲數量太多，有些爬到瓜類作物，才會出現以上的講法。

雖然之後沒有再發生此種金花蟲大爆發的情形，但了解此物種的生物學及正確身份是解決此問題的根本之道；該種金花蟲在台灣並沒有紀錄，比對文獻資料 (Kimoto & Takizawa 1997) 可確認此種隸屬於肥腳金花蟲屬 *Goniocтена* 的 *Sinomela* 亞屬，搜尋鄰近國家的相關資料後，發現與產於日本的 *G. (S.) nigroplagiata* Baly, 1862 最為相似，Takizawa (2007) 曾針對日本產此屬的種類做分類修訂，描繪 *G. (S.) nigroplagiata* Baly, 1862 的雄性生殖器及顏色變異，都與此種相符；最後跟英國倫敦自然史博物館商借模式標本，確認此一鑑定是正確的：*G. (S.) nigroplagiata* Baly, 1862，取中文名為變斑肥腳金花蟲，此分類研究正投稿中 (Lee & Hsieh submitted)。

在生物學的研究，經由馬祖當地研究人員觀察，發現成蟲取食大麻科的朴樹 *Celtis sinensis* Pers. 葉片 (圖 1A)；再經由定期前往馬祖做生物相關研究的人員 (方華德) 的協助調查，發現變斑肥腳金花蟲的幼蟲在每年春天會出現在朴樹的新葉上，2021 年 4 月 15 日方華德採集一些幼蟲 (圖 1B)，帶回實驗室飼養，一個星期後 (4 月 22 日) 開始有

老熟的幼蟲鑽入土中化蛹 (圖 1C)·到了 5 月 2 日開始有成蟲羽化·從土裡鑽出;日後在 5 月 11 日、9 月 29 日、10 月 21 日均未觀察到此金花蟲的蹤跡;因此可做如下的推測:變斑肥腳金花蟲為一年一世代的種類·每年春天朴樹發新葉時開始有幼蟲取食·一個月後幼蟲鑽入土內化蛹·再 10 天後成蟲羽化 (圖 1D)·再過三天黑斑型的成蟲翅鞘上的黑斑才開始顯現 (圖 1D, E)·新羽化的成蟲會取食寄主植物葉片幾天後開始隱藏休眠·等到隔年春天才出來活動、繁殖。以上的資訊可解決之前的疑問:一、變斑肥腳金花蟲是否為外來種?此種金花蟲的模式產地雖然在日本·但中國的福建也有紀錄 (Kippenberg 2010)·且此種非經濟害蟲·藉由經濟作物的運輸偷渡到馬祖的機率低·因此應該很早就已在馬祖定居了;二、未來是否有可能再爆發?可能性相當高:只要前一年的天氣穩定·存活下來的成蟲較多·若隔年氣候依舊穩定·朴樹生長茂密·能讓較多的幼蟲取食·順利成長·化蛹而羽化成蟲·這樣就可能造成大爆發;三、此金花蟲大爆發是否對人類社會造成影響?由於該種為單食性·只取食朴樹·對農作物毫無影響·而該金花蟲本身未含有毒物質·人體皮膚接觸後不會有反應·唯一的可能影響就是蟲的數量太多·很多個體可能會因缺乏足夠的食物而死亡·若飛到人為的環境·則需要清理蟲屍。

新紀錄害蟲引起農民的恐慌

2021 年 5 月農民通報皇帝豆出現害蟲危害·鑑定結果為琉璃粗腿金花蟲 *Sagra femorata* (Drury, 1773)·由於此種金花蟲尚未名列在害蟲名錄裡·因此必須緊急處理·評估其危害程度及是否有清除的可能。

琉璃粗腿金花蟲是大型且美麗的種類·後腿極度膨大·有如蛙腿 (圖 2B)·非常容易辨認;體色變異極大 (圖 2E-G)·致使同物異名多達 42 個·也就是說體色並非可靠的鑑定特徵;此種的前胸背板具微細點刻·在低倍顯微鏡下觀察不到·然該屬大部分種類前胸背板皆具有明顯點刻·只有 *S. bequetii* Lesson, 1831 前胸背板同樣也僅有微細點刻·不過此種翅鞘沿著中央縫線具縱向條紋·琉璃粗腿金花蟲則不具此條紋 (Sekerka & Geiser 2016)。

琉璃粗腿金花蟲廣布於中國南部及東南亞·(Gressitt & Kimoto 1961)認為包括斯里蘭卡、印度、東南亞、婆羅洲、中國南部:江西、浙江、福建、江蘇、四川、廣東、廣西、海南;(Kimoto & Gressitt 1979)詳列了東南亞國家:緬甸、泰國、寮國、柬普寨、越南、馬來西亞、印尼;(Konstantinov & Sekerka 2010)增加尼泊爾、巴基斯坦、及中國的湖北與雲南;(吳 2003)調查馬祖的昆蟲時有發現粗腿金花蟲;(Akita *et al.* 2011)發現此蟲入侵日本的三重縣;在台灣·2010 年 8 月首次在南投縣信義鄉的步道採獲標本·連續幾年有零星的採集或觀察紀錄·都侷限在南投縣;2015 年在鹿谷鄉鳳凰谷鳥園大量出現·且發

現幼蟲；(Lee 2015) 正式發表此外來種，但去(2021)年已在雲林及嘉義縣發現其蹤跡。由於琉璃粗腿金花蟲長相奇特且艷麗，是寵物店販售的種類之一，一些人可能覺得新奇而買回家觀察，之後拿到山上野放，或許因此造成在台灣立足。

琉璃粗腿金花蟲以豆科的山葛 *Pueraria montana* 為寄主植物 (圖 2A)，雌蟲產卵於啃食後形成的溝槽內，產卵後再用分泌物覆蓋；孵化後的幼蟲鑽入莖的髓部，取食木質部及髓心，導致被害處形成膨大的蟲癭 (圖 2C, D)；老熟的幼蟲會直接在蟲癭處化蛹，在野外可觀察到卵及蟲癭。中國的族群是一年一世代 (Li *et al.* 2004, 2013)，台灣的族群也一樣：成蟲在 5-7 月出現，8 月底已有老熟的幼蟲，在環境惡劣(被除草時)會加快化蛹的時間，例如發現阿里山山腳被除草，幾天後便發現乾燥化的山葛莖裡面已有琉璃粗腿金花蟲的蛹。

根據目前的觀察，粗腿金花蟲只影響到南投縣的山葛族群，然而山葛是野外常見的雜草，並未觀察到山葛大量消失的現象，其他以山葛為食的生物受到的影響應該很低。然而，最近(2021 年)有農民通報危害皇帝豆：成蟲取食豆莢，幼蟲在莖部造癭膨大、取食內部組織，最後造成莖部中空且誘使螞蟥前來造巢，最後整個植株死亡。而其他豆科作物由於體積小且一年內就收割並清除，不會有入侵的機會。而山葛為中低海拔的優勢植物，降低寄主植物的策略來減少粗腿金花蟲的族群

似乎不可能；而幼生期是在莖的內部取食，化學防治的效果有限；如果需要防治，主要方法是在春天清除乾枯的老藤並燒毀，這是消滅越冬幼蟲及蛹最簡單有效的方法 (Leng *et al.* 2002)。

分類學家造成的問題還是要分類學家來解決

非本土分類學家的鑑定結果偶而會造成防檢疫的難題，例如去年(2021)英國植物檢疫機關表示因英國脫離歐盟，將調整相關輸入植物或植物產品檢疫規定，請台灣方面提供特定有害生物於台灣發生的情形，其中台灣物種名錄已有記載「*Agrilus planipennis*」光蠟瘦吉丁蟲，要確認該害蟲是否已發生於台灣是個棘手的問題。

Agrilus planipennis 光蠟瘦吉丁蟲，英文俗名為「emerald ash borer」，這是一種對光蠟樹有極度侵略性的害蟲，(Haack *et al.* 2002)首度發現入侵美國，2003 年入侵俄羅斯的歐洲地區 (European Russia) (Izhevskii 2007)，在這兩個區域光蠟瘦吉丁蟲已殺死了上億棵的光蠟樹 (Haack *et al.* 2015)，造成極大的環境及經濟衝擊 (Hermes & McCullough 2014)；原產地一般被認為如下：中國 (北京、河北、黑龍江、吉林、遼寧、內蒙古、山東、四川、天津)、日本 (北海道、本州、九州、四國)、南韓、北韓、台灣、蒙古、俄羅斯 (遠東區) (Jendek and Grebennikov 2011; Chamorro *et al.* 2015)。

原生地區的寄主植物有三種光蠟樹：*Fraxinus mandshurica* Rupr.、*F. chinensis* ssp. *rhynchophylla* (Hance) A. E. Murray 及 *F. chinensis chinensis* Roxb.。

由於光蠟瘦吉丁蟲是一個極度侵略性的經濟害蟲，有學者針對此種的真實原產地做深入的研究，(Orlova-Bienkowskaja & Volkovitsh 2018) 針對幾個重要的蒐藏檢視標本，包含聖彼得堡俄羅斯科學院動物學博物館 (Zoological Institute of Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia)、捷克布拉格國立博物館 (National Museum, Prague, Czech Republic) (*A. marcopoli* Obenberger, 1930 及 *A. feretrius* Obenberger, 1936 的模式標本館藏地)、M. Yu. Kalashian 及 S. N. Ivanov 的個人蒐藏；並針對 31 篇報告有記載光蠟瘦吉丁蟲的採集地及寄主植物加以分析。他們發現產於台灣的紀錄有兩個：一是 *A. feretrius* Obenberger, 1936 台灣特有種被認為是 *A. planipennis* 的同物異名(Jendek 1994)；二是 Schaefer (1924)在日本東京國家博物館檢查已故的 Dr. Kurosawa 的蒐藏，發現一隻產於桃園的標本被鑑定成 *A. marcopoli feretrius* Obenberger, 1936，也就是說 *A. feretrius* Obenberger 被視為 *A. marcopoli* Obenberger 的亞種 (= *A. planipennis*)；Herms & McCullough (2014)質疑光蠟瘦吉丁蟲是否真的在台灣出現，因為這兩件標本有可能屬於另外一個種；(Orlova-

Bienkowskaja & Volkovitsh 2018)也同意此觀點，一是台灣離光蠟瘦吉丁蟲已知採集地的南界很遠；二是台灣至少有兩個相似種存在：*A. tomentipennis* Jendek & Chamorro, 2012 及 *A. pseudolubopetri* Jendek & Chamorro, 2012，前述兩件標本很有可能是鑑定錯誤，實際上是屬於這兩種其中一種；三是台灣雖然有兩種原生種光蠟樹，但都不是已知的寄主植物。

還有一點，台灣有公民科學家正在研究台灣的吉丁蟲，並與日籍學者已出版一本圖鑑介紹台灣產吉丁蟲種類 (Ong & Harrori 2019)，據他的採集經驗，並未發現光蠟瘦吉丁蟲的蹤跡，這提供了強而有力的證據支持光蠟瘦吉丁蟲並不存在於台灣。

結語

以上的案件都足以顯示分類研究在處理防檢疫害蟲有著舉足輕重的角色：當一種昆蟲大爆發且是台灣未知的種類時，要盡快鑑定到屬級，然後收集相關資訊，就如變斑肥腳金花蟲這一屬的種類皆為單食性 (monophagous)或寡食性 (oligophagous)，已知寄主皆為豆科、大麻科及殼斗科的種類，且沒有任何種類被列為農業害蟲，可先就這些資料提供給媒體以安撫民眾；之後則需進一步鑑定到種類，並持續野外調查及室內飼養以了解其生物學；將來若有同樣的大爆發情形，便可以提供完整的資料來教導民眾，解除民眾的恐慌；當有新紀錄害蟲出現在台灣

時·如能有正確的鑑定·便可快速蒐集相關資料·並配合野外調查·能夠很快速地擬定害蟲處置措施;至於已記錄害蟲的鑑定問題·除非有分類專家研究這問題·不然是無解的·光蠟瘦吉丁蟲的例子是極端幸運的·英國相關單位在 2021 年詢問此問題·剛好被俄籍學者 (Orlova-Bienkowskaja & Volkovitsh 2018) 研究過·而有了很好的訊息。

致謝

感謝邱奕家先生及蕭聖翰先生提供琉璃粗腿金花蟲的照片、曹美華先生提供變斑肥腳金花蟲的照片。

參考文獻

吳文哲。2003。馬祖昆蟲生態導覽。連江縣政府。192 頁。

Akita, K., H. Otake, T. Suzuki, M. Nakanishi, and M. Takakuwa. 2011. *Sagra femorata* introduced to Mie Pref., Japan. *Gekkan-mushi* 485:36–43. (in Japanese)

Chamorro, M. L., E. Jendek, R. A. Haack, T. R. Petrice, N. E. Woodley, A. S. Konstantinov, M. G. Volkovitsh, X.-K. Yang, V. V. Grebennikov, and S. W. Lingafelter. 2015. Illustrated guide to the emerald ash borer, *Agrilus*

planipennis Fairmaire and related species (Coleoptera, Buprestidae). Pensoft, Sofia-Moscow. 197 pp.

Gressitt, J. L. and S. Kimoto. 1961. The Chrysomelidae (Coleopt.) of China and Korea. *Pac. Ins. Mon.* 1A:1–299.

Haack, R. A., E. Jendek, H. Liu, K. R. Marchant, T. R. Petrice, T. M. Poland, and H. Ye. 2002. The Emerald Ash Borer: a new exotic pest in North America. *News. Mich. Entomol. Soc.* 47(3 & 4): 1–5

Haack, R. A., Y. Baranchikov, L. S. Bauer, and T. M. Poland. 2015. Chapter 1: Emerald ash borer biology and invasion history. *in*: Biology and control of emerald ash borer. (Van Driesche, R. G. and R. C. Reardon, eds.) FHTET-2014-09. Morgantown, WV: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team: 1–13.

Hermes, D. A. and D. G. McCullough. 2014. Emerald ash borer invasion of North America: history, biology, ecology, impacts, and management. *Annu. Rev. Entomol.* 59: 3–30. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162051>

Izhevskii, S. S. 2007. Threatening findings

- of the emerald ash borer *Agrilus planipennis* in the Moscow region. <http://www.zin.ru/Animalia/Coleoptera/rus/agrplaiz.htm> (now unavailable)
- Jendek, E. 1994.** Studies in the east palaearctic species of the genus *Agrilus* Dahl, 1823 (Coleoptera: Buprestidae) Part I. Entomol. Probl. 25: 9–24.
- Jendek, E. and V. Grebennikov. 2011.** *Agrilus* (Coleoptera, Buprestidae) of East Asia. Jan Farkac, Prague. 362 pp.
- Kimoto, S. and J. L. Gressitt. 1979.** Chrysomelidae (Coleoptera) of Thailand, Cambodia, Laos and Vietnam. Pac. Ins. 20: 191–256.
- Kimoto S, and H. Takizawa. 1997.** Leaf beetles (Chrysomelidae) of Taiwan. Tokai University Press, Tokyo. 581 pp.
- Kippenberg, H. 2010.** Subfamily Chrysomelinae Latreille, 1802. p. 390–443. *in*: Catalogue of Palaearctic Coleoptera, Volume 6. Chrysomeloidea. (Löbl, L. and A. Smetana, eds.) Apollo Books, Stenstrup. 924 pp.
- Konstantinov, A. and L. Sekerka. 2010.** Chrysomelidae: Sagrinae p. 337–338. *in*: Catalogue of Palaearctic Coleoptera, Volume 6. Chrysomeloidea. (Löbl, L. and A. Smetana, eds.) Apollo Books, Stenstrup. 924 pp.
- Lee, C.-F. and C.-H. Hsieh. Submitted.** Integrative taxonomy of the genus *Gonioctena* Chevrolat in Taiwan (Coleoptera: Chrysomelidae: Chrysomelinae). ZooKeys (under review)
- Leng, Q.-B., F.-F. Dai, and X.-R. Xu. 2002.** Preliminary investigation report on *Sagra femorata purpurea*, a species of *Pueraria lobata*'s pest. Jiangxi Forestry Science and Technology 5: 27–28, 35. (in Chinese)
- Li, J. F., D. J. Gu, and M. Y. Tian. 2004.** Preliminary research on biology of Purple Stem Beetle, *Sagra femorata purpurea* Lichtenstein (Coleoptera: Chrysomelidae), a natural enemy on Kudzu. Natural Enemies of Insects 26: 43–47. (in Chinese)
- Li, Q., F. Chen, Y.-C. Hu, W. Tang, C.-J. Wang, Z.-M. Zhou, and Z.-C. Gu. 2013.** Harm of *Sagra femorata* to kudzu vine root in Xiangxi. Journal of Jishou University 34: 93–96. (in Chinese)
- Obenberger, J. 1936.** De novis regionis orientalis Agrili generis speciebus

- (Col. Bupr.) II. Acta Soc. Entomol. Čechoslov. 33: 33–44.
- Ong, U. and T. Hattori. 2019.** Jewel beetles of Taiwan. Ministry of Beetles, Tainan City. 235 pp.
- Orlova-Bienkowskaja, M. J. and M. G. Volkovitsh. 2018.** Are native ranges of the most destructive invasive pests well known? A case study of the native range of the emerald ash borer, *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae). Biol. Invasions 20: 1275–1286. <https://doi.org/10.1007/s10530-017-1626-7>
- Sekerka, L. and M. Geiser. 2016.** Sagrinae of Laos (Coleoptera: Chrysomelidae. Entomol. Basil. et Coll. Frey 35: 443–453.
- Schaefer, P. W. 2004.** *Agrilus planipennis* (*A. marcopoli*) (Coleoptera: Buprestidae) in Japan and Mongolia—preliminary findings. p. 13. *in*: Proceedings of the 2003 Emerald Ash Borer Research and Technology Meeting, Port Huron, Michigan. USDA FS FHTET-2004-2. (Mastro, V. and R. Reardon, eds.) 44 pp.
- Takizawa, H. 2007.** A revision of the genus *Gonioctena* Chevrolat in Japan (Coleoptera: Chrysomelidae). Ins. Mat. N. S. 63: 35–50.

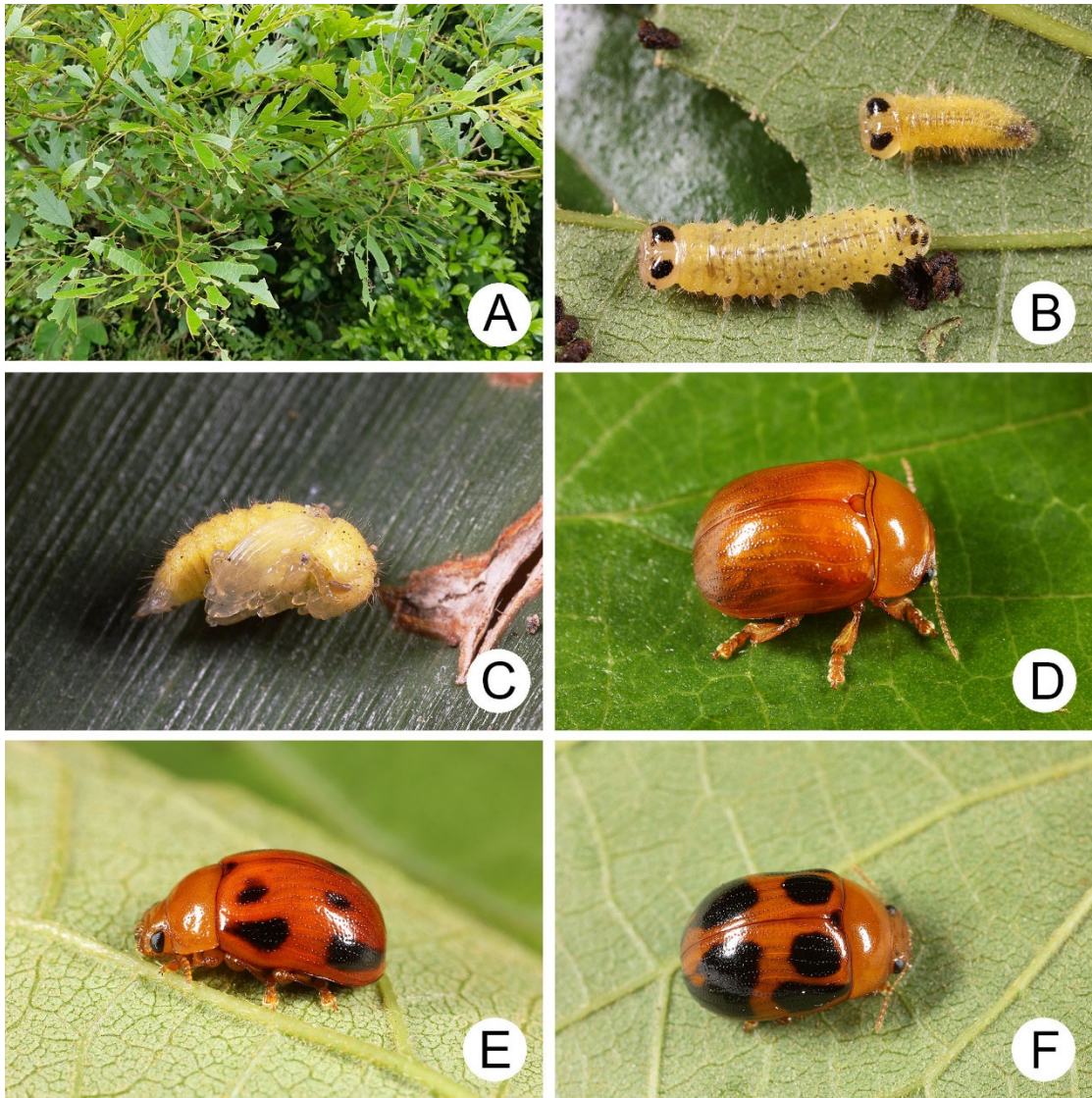


圖 1. 變斑肥腳金花蟲。(A)朴樹被大量的幼蟲取食；(B)幼蟲；(C)蛹；(D)成蟲，無斑型；(E)成蟲，黑斑型；(F) 成蟲，黑斑擴大型。

Fig. 1. *Gonioctena (Sinomela) nigroplagiata* Baly, 1862. (A) Leaves of *Celtis sinensis* fed by a lot of larvae; (B) Larvae; (C) Pupa; (D) Adult, elytra without black spots; (E) Adult, elytra with black spots; (F) Adult, elytra with black spots expanded.

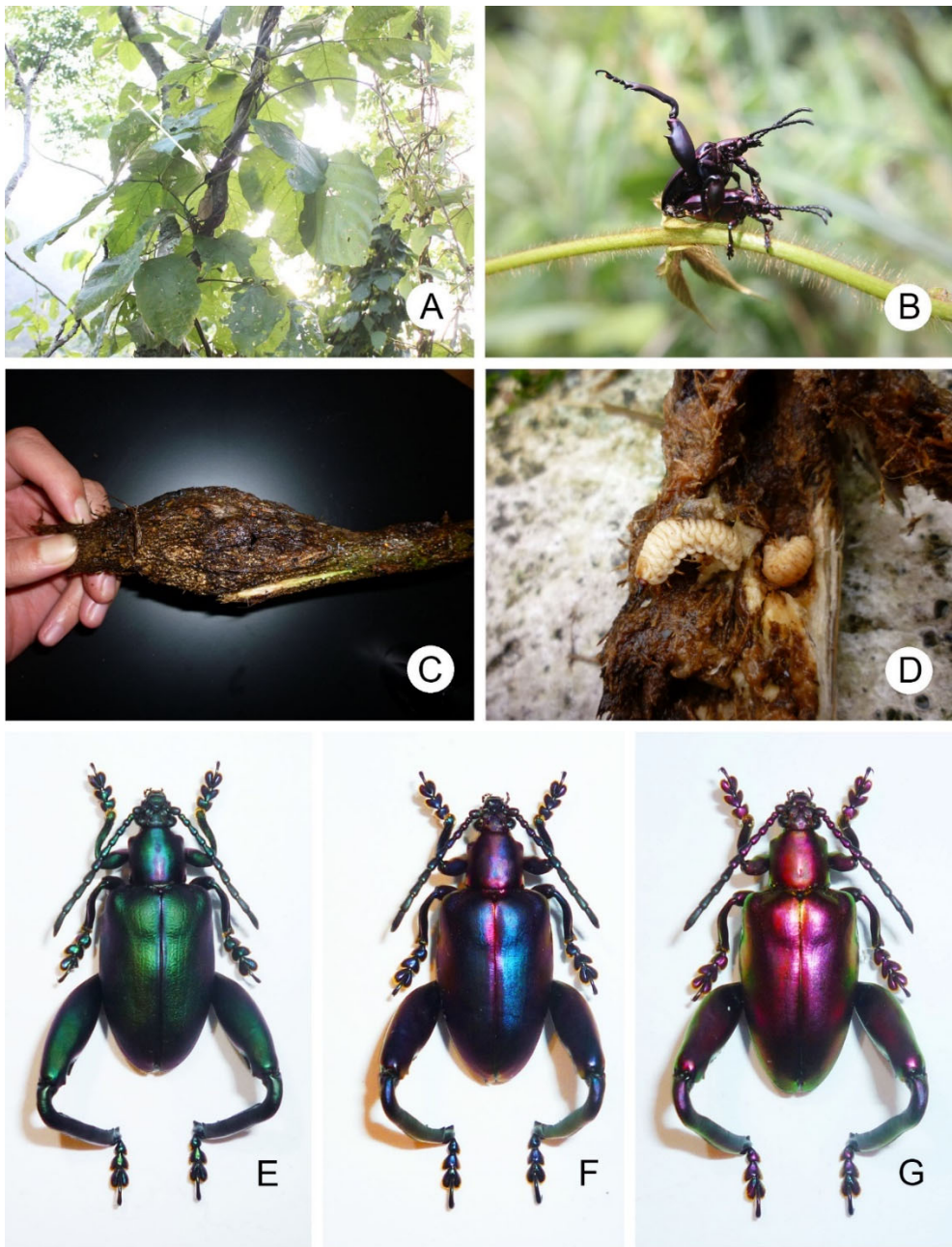


圖 2. 琉璃粗腿金花蟲。(A)寄主植物山葛；(B)一對成蟲在交配；(C)幼蟲所造成的蟲癭；(D)從翻出蟲癭內的幼蟲；(E)成蟲，綠色型；(F) 成蟲，藍色型；(G) 成蟲，紫色型。

Fig. 2. *Sagra femorata* (Drury, 1773). (A) Host plant, *Pueraria montana*; (B) A mating pair; (C) Insect gall caused by larvae; (D) Larvae inside the insect gall; (E) Green-colored adult; (F) Blue-colored adults; (G) Purple-colored adults.

What is the Role of Insect Taxonomy in Quarantine pests? Case Studies of Beetles

Chi-Feng Lee^{1,*}

¹Applied Zoology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung city, Taiwan, ROC.

Abstract

Coleoptera (beetles) is one of the orders with the highest species richness among insects. A great portion of Many imported samples intercepted by the Bureau of Animal and Health Plant Health Inspection and Quarantine are of beetles. Among them, the most sticky problems usually occurred in unexpected scenarios, such as outbreaks of unknown insects, the occurrence of a newly recorded insect pest, and the verification of records of insect pests. This article will address what kind of roles insect taxonomy play when dealing with these cases.

Key Words: *Gonioctena (Sinomela) nigroplagiata*, *Sagra femorata*, *Agilus planipennis*, *Celtis sinensis*, *Pueraria montana*, *Fraxinus*

*Corresponding author.

E-mail: Chifeng@tai.gov.tw

重要卵菌綱植物病原菌之分類與鑑定

黃晉興^{1,*} 安寶貞²

¹ 行政農業委員會農委會農業試驗所植物病理組。台灣 台中市。

² 行政農業委員會農委會農業試驗所植物病理組退休研究員兼組長。台灣 台中市。

摘要

卵菌(oomycetes)主要的生物特徵是會產生卵圓形的休眠孢子(卵孢子)以及游動的孢子(游走子)，雖然遺傳親緣關係和某些藻類相近，但無葉綠素無法行光合作用且形態與部分生物特性(菌絲)則與真菌類似，故又稱類真菌 (pseudofungi)。卵菌綱(Oomycetes)有一些成員是重要的植物病原菌，造成農業上的經濟損失或生態上的景觀破壞，這些植物病原卵菌(一千多種)多數屬於露菌目(Peronosporales)，一些屬於白銹菌目(Albuginales)，以及少數屬於水霉目(Saprolegniales)。隨著分子生物技術的發展，這 3 個目的植物病原卵菌的分類地位因時代與分類系統有所差異，有些舊有的屬種被重新分類或分拆，也有更多的新種被發現與命名。現今植物病原卵菌的鑑定方法除了傳統上依據形態特徵之外，核酸序列親緣關係的重要性更是日益提升，故形態特徵與核酸序列親緣關係便成了卵菌分類與鑑定的重要依據。

關鍵詞：卵菌綱、類真菌、植物病害

前言

本文所謂的“卵菌”(oomycetes)，指的是分類地位屬於卵菌門 (Phylum Oomycota) 的微生物，俗稱“水霉”(water mold) 或“藻菌”(Phycomycetes)，主要的外觀特徵為無間隔的菌絲、卵圓形厚壁的休眠孢子—卵孢子(oospore)(即卵菌的

名稱由來)，與產生具有游動能力的游走子(zooospore)，因不具葉綠素故無法進行光合作用，需由菌絲分泌酵素將養分在體外分解後，再吸收利用。由於卵菌多數種類以菌絲生長與吸收外界養分，以及能產生孢子(spore)的特性與真菌 (fungus) 相似，故以往一直被認為是真菌界 (Kingdom Fungi) 的一員 (Alexopoulos and Charles 1979)。然而卵菌

*論文聯繫人

E-mail: jhhuang@tari.gov.tw

在雙套染色體生物體態、鞭狀與羽狀各一的雙鞭毛、細胞壁組成、粒線體組成結構，以及有些生物化學特性與一般真菌不同(表一)，加上核酸序列的比對和某些藻類(如矽藻、黃綠藻)較近 (Gunderson *et al.* 1987; Van de Peer and De Wachter 1997)，在 1990 年之後被分類學者將之與真菌分開 (Alexopoulos *et al.* 1996)。由於大部分卵菌外觀形態與真菌相似，但生理與遺傳性狀有別於真菌，故卵菌又被稱之為“類真菌”(pseudofungi)。大部分的卵菌喜好有水的環境，多為腐生性，然而有一些是水生動物的寄生菌，有一些是哺乳動物的寄生菌，有一些則是植物的重要病原菌 (Breake & Thines 2017)，亦為本文介紹的重點。

卵菌綱植物病原菌在全球農業上造成多種重大作物疫情，2014 年由數百位植物病理學家票選 10 大植物病原卵菌 (Kamoun *et al.* 2014)，分別為：(1) *Phytophthora infestans* (晚疫病菌)，此菌在 1845 年引起馬鈴薯晚疫病(late blight)造成愛爾蘭大飢荒事件，使人們開始重視植物病理學 (Agrios 2005)，至今仍然是造成馬鈴薯生產的重大病原菌；(2, tied) *Hyaloperonospora arabidopsidis* (阿拉伯芥露菌病菌)，除了是阿拉伯芥的重要的病原菌之外，此菌也是卵菌綱病原菌—寄主植物之間的分子病理學重要研究系統；(2, tied) *Phytophthora ramorum* (櫟樹猝死疫病菌)，能危害多種樹木與觀賞植物造成大規模林木死亡，是全球重大的林木病原菌；(4)

Phytophthora sojae (大豆疫病菌)，主要危害大豆或其他豆類，每年造成 10 億美元以上的損失；(5) *Phytophthora capsici* (辣椒疫病菌)，可危害多種作物造成經濟損失，傳播力高且遺傳歧異度變化大；(6) *Plasmopara viticola* (葡萄露菌病菌)，是葡萄產業的最重要的威脅，在歐美葡萄產區每年都會造成不小的經濟損失；(7) *Phytophthora cinnamomi* (樟疫病菌)，危害林木與果樹造成嚴重的經濟損失，寄主超過千種，多年來在澳洲、南歐與美國造成自然景觀的破壞；(8, tied) *Phytophthora nicotianae* (syn.: *Phytophthora parasitica*，菸草疫病菌)，寄主超過 250 個屬與數千種，在溫暖地區造成嚴重植物病害；(8, tied) *Pythium ultimum* (終極腐霉菌)，寄主超過 300 種以上，主要感染播種的種子、根等造成產量損失，也能以腐生的方式生長與存活，生態棲所分佈很廣；(10) *Albugo candida* (薺菜白銹病菌)，造成十字花科作物的重要病害。

卵菌一直以來都是臺灣作物的重要病原菌 (無名氏 2019)，近年來有多種卵菌綱植物病原菌入侵台灣，造成嚴重的植物疫情，包括 *Phytophthora infestans* US11 菌系造成馬鈴薯與番茄晚疫病 (Jyan *et al.* 2004)，數種露菌病包括 *Peronospora belbahrii* 引起之羅勒露菌病 (陳等 2010)、*Plasmopara obducens* 引起之鳳仙花露菌病 (黃與李 2015)...等，此外，每逢雨季則常在作物出現所謂的“水傷”，許多案例也是由卵菌綱植

物病原菌造成(黃與安 2019)·這些病原菌造成之作物病害不僅造成作物產量與品質的損失·且每年皆要花費大量的經費用來進行病害防治。

植物病原卵菌綱微生物的分類

卵菌綱生物因年代與分類系統的不同·各屬的卵菌分類地位有所差異(表 2)·目前的分類體系是以核酸序列比對的親緣關係(molecular phylogeny)為主體·並搭配形態特徵·依 Beakes and Thine (2017)分類體系有 10 個目·然而絕大部分的植物病原卵菌分類上是屬於水霉目(Saprolegniales)、露菌目(Peronosporales)與白銹菌目(Albuginales)這 3 個目·本文的分類體系亦以此為主·至於種的數目則參考真菌生物多樣性研究中心(Centraalbureau voor Schimmelcultures fungal biodiversity center)的線上資料庫 MycoBank (www.mycobank.org) 在 2022 年 6 月 30 日前的資料。

1. 水霉目(Saprolegniales): 是植物病原菌的種類少·只有水霉科(Saprolegniaceae)的綿霉屬(*Achlya* spp.)少數幾個種·和疣頂霉科(Verrucalvaceae)的絲囊霉屬(*Aphanomyces* spp.)的少數幾個種是植物病原菌(Thines 2014)·主要造成浸水的作物出現根腐病徵·嚴重時造成植物死亡·這 2 個屬於 MycoBank 各列有 140 多個與 40 多個有效種名·臺灣目前還未有此目

植物病原菌的報告。

2. 露菌目(Peronosporales): 大部分的植物病原卵菌屬於此目。

(1).腐霉菌科(Pythiaceae): 計有腐霉菌屬(*Pythium*)與亞腐霉菌屬(*Pythiogeton*)·曾和其它科非植物病原菌的微生物共被提為腐霉菌目 Pythiales (Dick 2000)。

i. 腐霉菌屬(*Pythium*)的種類甚多·MycoBank 列有 376 個有效種名(含亞種)·其中有 59 個非有效命名·2004 年有學者利用核酸序列的親緣關係將腐霉菌區分為 A-K 共 8 群(Levesque & de Cock 2004)·其中的 Clade K 後來被命名為 Genus *Phytopythium* (Bala 2010; De Cock *et al.* 2015)·歸類於露菌科; 同年 Uzuhashi 等人將腐霉菌屬依孢囊的形態再區分成 5 個屬·其中 *Pythium*、*Globisporangium*、*Ovatisporangium* 等 3 個屬的種類較多·後者即是 *Phytopythium* 的同物異名(分類上仍以 *Phytopythium* 為主)·而 *Elongisporangium*、*Pilasporangium* 此 2 個屬較罕見(Uzuhashi *et al.* 2010; Nguyen *et al.* 2022)·大部分的腐霉菌是腐生或兼性植物病原菌·可感染植物造成萌前與萌後猝倒、根腐、莖腐、果腐、葉枯與採收後的病害·有些種類可寄生在真菌或卵菌上(Van Der Plaats-Niterink 1981)·有些種類甚至是昆蟲

- (Saunders *et al.* 1988)、魚 (Van Der Plaats-Niterink 1981)、藻類 (Takahashi *et al.* 1977)、甚至是哺乳類動物 (包括人類) 的病原菌 (Mendoza *et al.* 1996; Gaastra *et al.* 2010)。
- ii. 亞腐霉菌屬(*Pythiogeton*)曾一度被提升至 *Pythiogetonaceae* 科(Dick 2001)，於 MycoBank 列有 16 個有效種名，只有 3 個種被認為是植物病原菌 (Huang 2013)，主要感染根部或莖基部浸水處，其中 *Pythiogeton zizaniae* 是造成臺灣茭白基腐病的主要病原菌 (Ann *et al.* 2006; Huang *et al.* 2013)。
- (2). 露菌科 (Peronosporaceae)：計有 *Phytopythium* 屬、疫病菌屬 (*Phytophthora*)、海生疫病菌屬 (*Halophytophthora*)，以及 20 個屬的露菌 (downy mildew) (Beakes & Thine 2017)。
- i. *Phytopythium* 屬於 2010 年之前分類上是仍隸屬於腐霉菌科 (Bala 2010; De Cock *et al.* 2015)，MycoBank 列有 26 個有效種名。此屬特性與腐霉菌屬相似，為腐生或兼性植物病原菌(De Cock *et al.* 2015)。
 - ii. 疫病菌屬(*Phytophthora*)：自 2000 年起，學者以核酸序列比對認為疫病菌與露菌親緣較腐霉菌近 (Cooke *et al.* 2000)，爾後疫病菌屬則被建議分類在露菌科中(Goker *et al.* 2007)。多數疫病菌種類為植物病原菌，前述所言的十大植物病原卵菌中，疫病菌屬則佔 6 名 (Kamoun *et al.* 2014)，可見此屬病原菌在植物病原卵菌界的重要性。大部分種類可感染根部或莖基部，造成根腐、莖腐 (褐腐)或植株死亡；另一部分種類的疫病菌多感染作物地上部，造成葉枯、莖枯、花腐、果腐...等病徵，或有些可同時感染植物地下部與地上部(Erwin & Ribeiro 1996)；自 2000 年以後，有許多新種是從森林土壤與河水中分離得到，尚未清楚其對植物之病原性(Hansen *et al.* 2012)。MycoBank 列有 318 個有效種名 (含亞種與雜交種)。
 - iii. 海生疫病菌屬 (*Halophytophthora*)：MycoBank 列有 28 個有效種名，為棲息於鹽鹼地或海洋中的微生物 (Nakagiri 2000)。
 - iv. 露菌(downy mildew)：計有 20 個屬超過 700 種(Thines 2014)，20 個屬分別為 *Basidiophora*, *Baobabopsis*, *Bremia*, *Benua*, *Eraphthora*, *Graminivora*, *Hyaloperonospora*, *Novotelnova*, *Paraperonospora*, *Perofascia*, *Peronosclerospora*, *Peronospora*, *Plasmopara*, *Plasmoverna*, *Poakatesthia*, *Protobremia*, *Pseudoperonospora*, *Sclerospora*, *Sclerophthora*, *Viennotia*。全部都是絕對寄生菌 (obligate

parasites)·通常具有寄主專一性·多為空氣傳播由氣孔侵入而感染作物地上部為主·造成葉片、花、果或幼莖出現壞疽斑·長出透明至灰色的黴狀物(通常在葉背氣孔)·被稱為露菌病(downy mildew)·有時也會系統性的感染·造成植株畸形生長(Thines 2014)。

3. 白銹菌目(Albuginales)：目前只有一個科——白銹菌科 (Albugiaceae) 3 個屬 (*Albugo*、*Pustula*、*Wilsoniana*)·MycoBank 分別列有 90、71 與 6 個有效種名。此科的植物病原菌為絕對寄生菌·多感染雙子葉植物·通常具有寄主專一性·有些則寄主範圍較廣(Khunti *et al.* 2000)。為空氣傳播由氣孔侵入·而感染作物地上部·造成葉片、花或幼莖出現白色泡狀的病斑·被稱為白銹病(white blister or white rust)·有時也會系統性的感染·造成植株莖葉或幼葉畸形 (Jacobson *et al.* 1998)。

重要卵菌綱植物病原菌之鑑定

植物病原卵菌(一千多種)多數屬於露菌目(Peronosporales)·一些屬於白銹菌目(Albuginales)·以及少數屬於水霉目(Saprolegniales)。以下細談的對象為水霉目(Saprolegniales)的植物病原菌 *Achlya* (綿霉屬)及 *Aphanomyces* (絲囊霉屬)·露菌目(Peronosporales)的腐霉菌屬 (*Pythium*)·亞腐霉菌屬 (*Pythiogeton*)·*Phytophthium* 屬·疫病菌屬(*Phytophthora*)與露菌(20 個

屬)·以及白銹菌目(Albuginales)的 3 個屬。鑑定上是以形態特徵與核酸序列的親緣關係並重。

1. 水霉目 (Saprolegniales)

水霉目的形態特徵：孢囊柄(sporangiophore)未明顯分化·孢囊(sporangium)呈粗大菌絲狀·游走子在孢囊內分化成型(圖 2)·可產生 2 條鞭毛在前端而體呈梨形的一次游走子(primary zoospore)·爾後靜止成為不動孢子(aplanospore)·再分化成可產生 2 條鞭毛在側端而體呈腎形的二次游走子(secondary zoospore)；藏卵器(oogonium)與藏精器(antheridium)結合可產生多個卵孢子·或有些種類只產生 1 個卵孢子(Alexopoulos & Charles 1996; Beakes *et al.* 2014; Beakes & Thine 2017)。

Saprolegniaceae (水霉科)的 *Achlya* (綿霉屬)與 Verrucalvaceae 科的 *Aphanomyces* (絲囊霉屬)形態上差異在於孢囊的形態·游走子在分化形成的方式·有無釋放管(discharge tube)以及藏卵器內有多個或單一個卵孢子 (Beakes *et al.* 2014)。此外·以 rDNA large subunit (LSU), small subunit (SSU), ITS 的核酸序列的親緣關係可鑑定至種(Steciow *et al.* 2014)。

2. 露菌目 (Peronosporales)

露菌目的形態特徵：孢囊柄分化明顯

游走子在孢囊內分化(圖 2)·或孢囊柄分化不明顯而游走子在孢囊外的孢囊(vesicle)內分化成型·只產生 2 條鞭毛在側端而體呈腎形的二次游走子·或孢囊不產生游走子而直接發芽產生菌絲;藏卵器內只產生 1 個卵孢子(Alexopoulos & Charles 1996; Beakes *et al.* 2014; Beakes & Thine 2017)·腐霉菌科的腐霉菌屬(*Pythium*)與亞腐霉菌屬(*Pythiogeton*)·以及露菌科的*Phytopythium*屬與疫病菌屬(*Phytophthora*)皆能以人工培養基培養·而形態上的主要差異在於游走子形成與水中釋放過程(圖 3)·

- (1) 腐霉菌(*Pythium*)：屬內種的鑑定在形態上主要是看孢囊形狀、藏卵器外觀、藏精器外觀與數量、卵孢子外觀、菌絲膨大體(hyphae swelling)、厚膜孢子(chlamydospore)、菌絲生長適溫、寄主...等·早在 1981 年已有專書詳細介紹腐霉菌的生物特性與主要以形態為主的分類系統(Van Der Plaats-Niterink 1981)·2010 年 Uzuhashi 等人以核酸序列的親緣相關性為主體·將腐霉菌屬依孢囊的形態再區分成 5 個屬·分別是 *Pythium*—孢囊線形或線形膨大、*Globisporangium*—孢囊球形、*Ovatisporangium* (syn.: *Phytopythium*)—孢囊卵形、*Elongisporangium*—孢囊棍棒形或長條形、*Pilasporangium*—

孢囊球形但不增生(proliferating)而菌絲多複雜分枝(Uzuhashi *et al.* 2010; Nguyen *et al.* 2022)·此外·利用核酸序列的親緣關係可容易的初步鑑定·例如使用 rDNA large subunit (LSU) D1/D2 與 ITS、 β -tubulin、mitochondrial cytochrome oxidase II (*coxII*) gene (Villa *et al.* 2006; Uzuhashi *et al.* 2010) 或 whole genome sequencing (Nguyen *et al.* 2022)·

- (2) *Phytopythium* 屬：鑑定方法參考上述腐霉菌·以及利用 rDNA -LSU, SSU, ITS 與 *coxI* 等核酸序列的親緣關係 (de Cock *et al.* 2015)·
- (3) 亞腐霉菌(*Pythiogeton*)：種的鑑定主要依據孢囊形態、有性世代外觀、寄主...等·以及 rDNA ITS 序列比對的親緣性 (Huang 2013)·
- (4) 疫病菌(*Phytophthora*)：種的鑑定在形態上主要是孢囊形狀、孢囊柄的發生型式、藏卵器外觀、藏精器結合方式、卵孢子外觀、菌絲膨大體、厚膜孢子、配對型、菌絲生長適溫、寄主...等·早在 1963-1970 年已有報告詳細介紹以形態為主的疫病菌分類系統(Waterhouse 1963; 1970)·以 3 型孢囊乳突(乳突 papillate、半乳突 semi-papillate、無乳突 non-papillate)以及 2 種藏精器著生的方式(底著 amphigynous、側著 paragynous)將疫病菌種類區分成 6 大群·自 2000 年

Cooke 等人以 rDNA-ITS 核酸序列的親緣關係，將疫病菌區分成 10 群 Clade 1-10 (Cooke *et al.* 2000)，爾後有學者納入更多菌株到這 10 群 (Blair *et al.* 2008; Kroon *et al.* 2012)，並認為傳統上利用藏精器著生方式以及同異絲型(homo or heterothallic)並不契合於核酸序列的親緣關係，但乳突形態與核酸序列的親緣相關性高(Yang *et al.* 2017)。目前在疫病菌上的鑑定以核酸序列的親緣關係並配合形態觀察，主要使用核酸序列片段為：enolase (Enl), 28S ribosomal DNA (28S), tigA gene fusion protein (TigA), internal transcribed spacer (ITS rDNA), elongation factor 1-alpha (EF1a), shock protein 90 (HSP90), beta-tubulin, 60S ribosomal protein L10 (RPL10), Ras-related protein ypt1 (ypt), and cytochrome c oxidase subunit 1 (COI), mitochondrial (Blair *et al.* 2008; Kroon *et al.* 2012; Yang *et al.* 2017; IDphy: molecular and morphological identification of *Phytophthora* based on the types- <http://idtools.org/id/phytophthora/index.php>)。

(5) 露菌(Downy mildew)：原先露菌各個屬的鑑定是依孢囊柄的形狀，與孢囊直接發芽產生發芽管或間接發芽產生游走子，可大略區分成 7 個屬(Alexopoulos *et al.* 1996)；露菌種類鑑定除了以形態與孢囊

柄構造之外，和吸器形狀以及寄主種類有關 (Voglmayr *et al.* 2004)；爾後學者依露菌多片段核酸(LSU: D1/D2/D3, LSU: D7/D8, Cox2, B-Tubulin, NADH)序列的親緣關係，加上孢囊顏色、吸器(haustorium)形狀以及寄主種類將各種露菌區分為後述 4 群 (Beakes & Thine 2017; Goker *et al.* 2007; Thines 2014)。同群不同屬露菌的形態差異足夠區分，而同屬不同種露菌的寄主範圍除了少數例子之外，大多侷限在科，使露菌菌株可由表現型(形態與寄主範圍)與核酸序列的親緣關係來鑑定 (Thines *et al.* 2009; Voglmayr 2008)。

- i. 禾本科的露菌 (Graminicolous downy mildews, GDM)： *Baobabopsis* 屬、 *Eraphthora* 屬、 *Graminivora* 屬、 *Peronosclerospora* 屬、 *Poakatesthia* 屬、 *Sclerospora* 屬、 *Sclerophthora* 屬、 *Viennotia* 屬。
- ii. 十字花科的露菌 (Brassicicolous downy mildews, BDM)： *Hyaloperonospora* 屬、 *Perofascia* 屬。
- iii. 孢囊有顏色的露菌 (Downy mildews with colored conidia, DMCC)： *Pseudoperonospora* 屬、 *Peronospora* 屬。
- iv. 吸器為洋梨形的露菌 (Downy mildews with pyriform haustoria, DMPH)： *Basidiophora* 屬、 *Benua* 屬、 *Bremia* 屬、

Novotelnova 屬、*Paraperonospora* 屬、*Plasmopara* 屬、*Plasmoverna* 屬、*Protobremia* 屬。

3. 白銹菌目 (Albuginales)

只有 1 個科 Albuginaceae，原先的分類系統白銹菌只有 1 個屬 (*Albugo*) (Alexopoulos *et al.* 1996)。後來依據卵孢子及孢囊的形態以及核酸序列比對而區分為後述的 3 個屬 (*Albugo*, *Pustula*, *Wilsoniana*) (Thines & Spring 2005; Thines & Voglmyr 2009; Voglmyr 2008)。其中以卵孢子表面的紋路型式最為重要，為屬分類的主要依據，亦為某些同屬不同種的辨別依據 (Thines & Spring 2005)，而以寄主來判斷種類則較不適合，因為有些種如 *A. candida* 寄主廣，而有些寄主可被數種白銹病菌寄生 (Thines & Voglmyr 2009)。除了形態鑑定之外，目前鑑定需要有核酸序列 (rDNA-LSU, rDNA-ITS, Cox2, B-Tubulin, NADH) 的親緣關係 (Voglmyr 2008)。

(1) *Albugo* 屬：孢囊球形無色而孢囊厚壁不明顯；卵孢子外壁網狀紋、疣瘤狀；寄主多為十字花科類 (Brassicaceae)、毛蕊花科 (Cleomaceae)、山梗菜科 (Capparaceae)、旋花科 (Convolvulaceae)，有些種類寄主範圍廣。

(2) *Pustula* 屬：孢囊球形淡黃色或圓柱形無色而孢囊厚壁在中圍；卵孢子外壁密

緻網狀紋；寄主多為菊類 (Asteridae)。

(3) *Wilsoniana* 屬：末端孢囊淡黃色及其他孢囊無色而孢囊厚壁在中圍上方處；卵孢子外壁不規則網狀紋；寄主多為石竹類 (Caryophyllales)。

卵菌的鑑定原則上是以形態特徵與核酸序列的親緣關係並重，範例見臺灣玫瑰疫病菌之鑑定 (圖 4、圖 5、表 3)。

結語

植物病原卵菌在適合的氣象與環境下，傳播與感染作物造成發病的速度很快，所以最好管理方式是預防勝於治療，而病原菌的鑑定便是管理的基本工作，卵菌綱微生物的分類系統視不同學者的訂定而各有不同，只要說明是使用那一系統即可，重點在於鑑定的學名是否正確。例如櫟樹猝死病菌 *Phytophthora ramorum*，是許多國家的重要檢疫植物病原菌，在美國曾因偽陽性的診斷，造成業者的損失；羅勒露菌病菌一開始被認為是舊菌株 *Peronospora lamii*，該菌已存在歐洲多年，不是大問題而被忽視，因而遲遲未建立此病的檢疫對象，後來羅勒露菌病從瑞士開始大流行至歐洲多國，再隨著全球貿易而傳播到五大洲國家，爾後才鑑定是新種的羅勒露菌病菌 (*P. belbahrii*) (Thines & Voglmyr 2009)。

植物病原卵菌傳統的鑑定方法是依據表現型 (形態、生長條件、寄主範圍)，但執行不容易，原因有：有些菌是絕對寄生或產孢不

易，老舊菌株培養不易且形態易變，形態有時因培養條件而有差異，形態特性有時會重疊不易區分，目前的形態區分項目不足應用，人員要有相當的訓練才能勝任...。自 2000 年以來，核酸序列比對之親緣分析工具日益簡便，已漸漸成為微生物鑑定的主力工具，但不應忽略形態與其他表現型的重要性。然而核酸序列的菌株選擇相當重要，不應從網站(如 NCBI)隨便取一支來比對，應該要選擇模式標本(type specimen)即首次發表寄存菌株的核酸序列，通常採用該研究領域的著名學者所發表文章的菌株序列比較不會出錯。目前用在植物病原卵菌鑑定的核酸序列片段種類很多，其中以 rDNA-ITS 序列最普遍，但也有不適用的時候，這時便要考慮採用其他片段的核酸序列，未來是否發展出全基因組定序(whole genome sequencing · WGS)來比對，我們拭目以待。

引用文獻

- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*, 5th Ed. Elsevier Academic Press. 729pp.
- Alexopoulos, C. J., and W. M. Charles. 1979. *Introductory mycology* 3rd edition. 632pp.
- Alexopoulos, C. J., C. W. Mims, and M. Blackwell. 1996. *Introductory mycology* 4th edition. John Wiley and Sons Inc. Press, 868pp.
- Ann, P. J., J. H. Huang, I. T. Wang, and W. H. Ko. 2006. *Pythiogeton zizaniae*, a new species causing basal stalk rot of water bamboo in Taiwan. *Mycologia* 98: 116–120.
- Anonymous. 2019. List of plant diseases in Taiwan (5th edition). Taiwan Phytopathological Society Press. 329pp. (in Chinese)
- Bala, K. 2010. *Phytophythium* Abad, de Cock, Bala, Robideau, Lodhi and Lévesque, gen. nov. and *Phytophythium sindhum* Lodhi, Shahzad and Lévesque, sp. nov. *Personia* 24:136–137.
- Beakes, G. W., and M. Thines. 2017. Hyphochytriomycota and Oomycota. p. 435–505. *In*: Second Edition of Handbook of the Protists. (Archibald, J. M. et al. ed.) Jones and Bartlett Publishers, Boston.
- Beakes, G. W., D. Honda, and M. Thines. 2014. Systematics of the Straminipila: Labyrinthulomycota, Hyphochytriomycota, and Oomycota. p. 42–100. *In*: The Mycota (Systematics and Evolution: Part A, Part 1, Edition 2). (Karl, E. ed) Springer Press.
- Blair, J. E., M. D. Coffey, S. Y. Park, D. M.

- Geiser, and S. Kang. 2008. A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genetics and Biology*, 45: 266–277.
- Chen, C. -H., J. -H. Huang, and T. -F. Hsieh. 2010. First report of *Peronospora belbahrii* causing downy mildew on basil. *Plant Pathol. Bull.* 19: 177–180. (in Chinese with English abstract)
- Cooke, D. E. L., A. Drenth, J. M. Duncan, G. Wagels, and C. M. Brasier. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. *Fungal Genetics and Biology* 30: 17–32.
- De Cock, A. W. A. M., A. M. Lodhi, T. L. Rintoul, K. Bala, G. P. Robideau, Z. Gloria Abad, M. D. Coffey, S. Shahzad, and C. A. Levesque. 2015. *Phytophthora*: molecular phylogeny and systematics. *Personia* 34: 25–39.
- Dick, M. W. 2001. *Straminipilous fungi*. Springer Science+Business Media Press, 670pp.
- Erwin, D. C., and O. K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathological Society Press. 592pp.
- Gaastra W, L. J. A. Lipman, A. W. A. M. De Cock, T. K. Exel, R. B. G. Pegge, J. Scheurwater, R. Vilela, and L. Mendoza. 2010. *Pythium insidiosum*: an overview. *Vet. Microbiol.* 146: 1–16.
- Göker, M., H. Voglmayr, A. Riethmüller, and F. Oberwinkler. 2007. How do obligate parasites evolve? A multi-gene phylogenetic analysis of downy mildews. *Fung. Genet. and Biol.* 44: 105–122.
- Gunderson, J. H., H. Elwood, A. Ingold, K. Kindle, and M. L. Sogin. 1987. Phylogenetic relationships between Chlorophytes, Chrysophytes, and Oomycetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 5823–5827.
- Hansen, E. M., P. W. Reeser, and W. Sutton. 2012. *Phytophthora* beyond agriculture. *Annu. Rev. Phytopathol.* 50: 359–378.
- Huang J. H. and Li, P. J. 2015. Occurrence and control of Impatiens downy mildew in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 24: 89–96 • (in Chinese with English abstract)
- Huang, J. H., C. Y. Chen, Y. S. Lin, P. J. Ann, H. C. Huang, and W. H. Chung. 2013. Six new species of *Pythiogeton* in Taiwan, with an account of the

- molecular phylogeny of this genus. *Mycoscience* 54: 130–147.
- Huang, J. H., and P. J. Ann. 2019. Heavy rainfall has given rise to severe crop diseases caused by *Phytophthora* spp. in Taiwan. *J. Plant Med.* 61: 74. (Abstract in Chinese)
- Jacobson, D. J., S. H. LeFebvre, R. S. Ojerio, N. Berwald, and E. Heikkinen. 1998. Persistent, systemic, asymptomatic infections of *Albugo candida*, an oomycete parasite, detected in three wild crucifer species. *Can. J. of Bot.* 76: 739–750.
- Jyan, M. H., P. J. Ann, J. N. Tsai, S. D. Hsieh, T. T. Chang, and R. F. Liou. 2004. Recent occurrence of *Phytophthora infestans* US-11 as the cause of severe late blight on potato and tomato in Taiwan. *Can. J. Plant Pathol.* 26: 188–192.
- Kamoun, S., O. Furzer, J. D. G. Jones, H. S. Judelson, G. S. Ali, R. J. D. Dalio, S. G. Roy, L. Schena, A. Zambounis, F. Panabieres, D. Cahill, M. Ruocco, A. Figueiredo, X. R. Chen, J. Hulvey, R. Stam, K. Lamour, M. Gijzen, B. M. Tyler, N. J. Grünwald, M. S. Mukhtar, D. F. A. Tomé, M. Tör, G. Van Den Ackerveken, J. McDowell, F. Daayf, W. E. Fry, H. Lindqvist-Kreuzer, H. J. G. Meijer, B. Petre, J. Ristaino, K. Yoshida, P. R. J. Birc, F. Govers. 2014. The Top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 16: 413–434.
- Khunti, J. P., R. R. Khandar, and M. F. Bhoraniya. 2000. Studies on host range of *Albugo cruciferarum* the incitant of white rust of mustard. *Agri. Sci. Digest* 20: 219–221.
- Kroon, L. P. N. M., H. Brouwer, F. Govers, and A. W. A. M. de Cock. 2012. The genus *Phytophthora* anno 2012. *Phytopathol.* 102: 348–364.
- Levesque, C. A. and A. W. A. M. de Cock. 2004. Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. *Mycol Res* 108: 1363–1383.
- Mendoza, L., L. Ajello, and M. R. McGinnis. 1996. Infections caused by the Oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. *J. Mycol. Med.* 6: 151–164.
- Nakagiri, A. 2000. Ecology and biodiversity of *Halophytophthora* species. *Fungal Divers.* 5: 153–164.
- Nguyen, H. D. T., A. Dodge, K. Dadej, T. L. Rintoul, E. Ponomareva, F. N. Martin, A. W. A. M. de Cock, A. Levesque, S. A. Redhead, and C. F. J. Spies. 2022. Whole genome sequencing and

- phylogenomic analysis show support for the splitting of genus *Pythium*. *Mycologia* 114: 501–515.
- Saunders, G. A., J. O. Washburn, D. E. Egerter, and J. R. Anderson. 1988.** Pathogenicity of fungi isolated from field collected larvae of the western treehole mosquito, *Aedes sierrensis* (Diptera, Culicidae). *J. Invertebr. Pathol.* 52: 360–363.
- Steciow, M. M., E. Lara, C. Paul, A. Pillonel, and L. Belhahri. 2014.** Multiple barcode assessment within the *Saprolegnia-Achlya* clade (Saprolegniales, Oomycota, Straminipila) brings order in a neglected group of pathogens. *IMA Fungus* 5: 439–448.
- Takahashi, M., T. Ichitani, and M. Sasaki. 1977.** *Pythium porphyrae* Takahashi et Sasaki, sp. nov. causing red rot of marine red algae *Porphyra* spp. *Trans Mycol. Soc. Jpn.* 18: 279–285.
- Thines, M. 2014.** Phylogeny and evolution of plant pathogenic oomycetes—a global overview. *Eurr. J. Plant Pathol.* 138: 431–447.
- Thines, M. and H. Voglmayr. 2009.** An introduction to the white blister rusts (Albuginales). p. 77–92, *In*: Oomycete genetics and genomics: Diversity, interactions and research tools. (Lamour, K. and Kamoun, S. eds.) Wiley Press.
- Thines, M., H. Voglmayr, and M. Göker. 2009.** Taxonomy and phylogeny of the downy mildews. p. 47–75. *In*: Oomycete genetics and genomics: Diversity, interactions and research tools. (Lamour, K. and Kamoun, S. eds.) Wiley Press.
- Thines, M. and O. Spring. 2005.** A revision of *Albugo* (Chromista, Peronosporomycetes). *Mycotaxon* 92: 443–458.
- Uzuhashi, S., M. Kakishima, and M. Tojo. 2010.** Phylogeny of the genus *Pythium* and description of new genera. *Mycoscience*. 51: 337–65.
- Van de Peer, Y. and De R. Wachter. 1997.** Evolutionary relationships among the eukaryotic crown taxa taking into account site-to-site rate variation in 18S rRNA. *Journal of Molecular Evolution* 45: 619–630.
- Van Der Plaats-Niterink, A. J. 1981.** Monograph of the genus *Pythium*. *Stud. Mycol.* 21: 1–242.
- Villa, N. O., K. Kageyama, T. Asano, and H. Suga. 2006.** Phylogenetic relationships

of *Pythium* and *Phytophthora* species based on ITS rDNA, cytochrome oxidase II and β -tubulin gene sequences. *Mycologia* 98: 410–422.

Voglmayr, H. 2008. Progress and challenges in systematics of downy mildews and white blister rusts: new insights from genes and morphology. *Eur. J. Plant Pathol.* 122: 3–18.

Voglmayr, H., A. Riethmüller, M. Göker, M., Weiß, and F. Oberwinkler. 2004. Phylogenetic relationships of *Plasmopara*, *Bremia* and other genera of downy mildews with pyriform haustoria based on Bayesian analysis of partial LSU rDNA sequence data. *Mycol. Res.* 108: 1011–1024.

Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycol. Pap.* 92. Comm. Mycol. Ins. Kew, Surrey, England. 22pp.

Waterhouse, G. M. 1970. The genus *Phytophthora* - Diagnoses (or Descriptions) and Figures from the Original Papers, 2nd edition. *Mycol. Pap.* 122: 1–59.

Yang, X., B. M. Tyler, and C. Hong. 2017. An expanded phylogeny for the genus *Phytophthora*. *IMA Fungus* 8: 355–384.

Yuan C. Y., J. H. Huang, P.Y. Ting, and P. J. Ann. 2020. First report of rose blight caused by *Phytophthora nagaii* and *Phytophthora bisheria* in Taiwan. *J. Plant Med.* 62: 13–22.

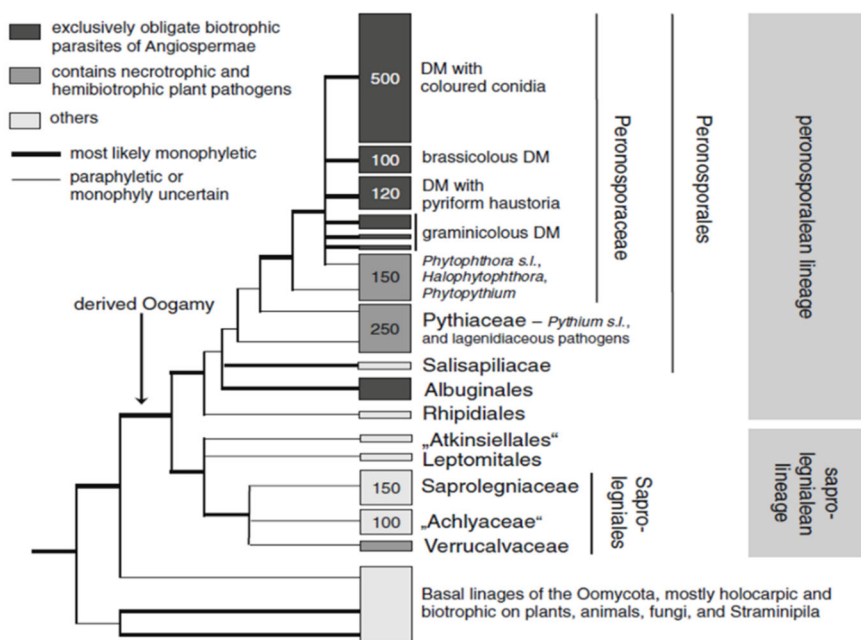
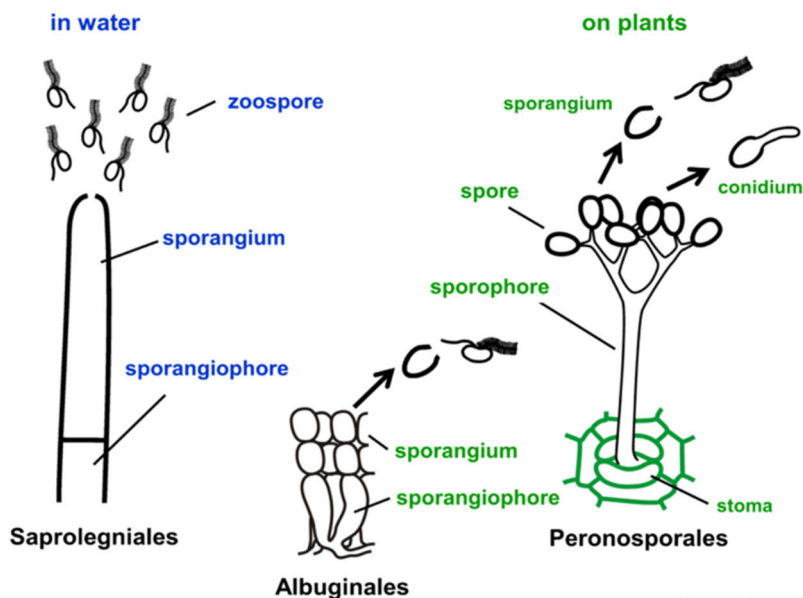


圖 1、卵菌分類的演化樹架構示意圖 (節錄自 Thines 2014)

Fig. 1. Phylogenetic and taxonomic schematic framework for the oomycetes.



© M. Piepenbring, CC BY-SA

圖 2. 水霉目、白銹菌目、露菌目的孢囊形態差異。節錄自 <https://www.wikiwand.com/en/Oomycete>

Fig. 2. Sporangia structures in Saprolegniales, Albuginales and Peronosporales.

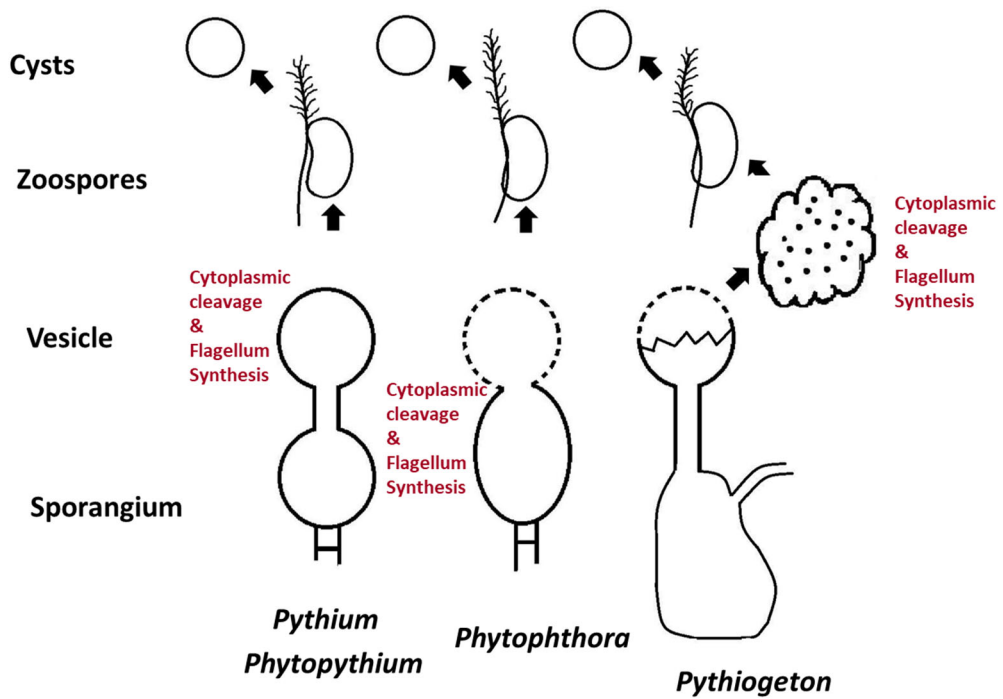


圖 3、*Pythium*、*Phytophthora*、*Phytophthora*、*Pythiogeton* 4 個屬的游走子產生的過程差異示意圖。(改畫自 <https://www.slideshare.net/venkatesh.moktali/o12-motoaki-presentation>)

Fig. 3. Schematic figure for the differentiation of *Pythium*, *Phytophthora*, *Phytophthora*, and *Pythiogeton*.

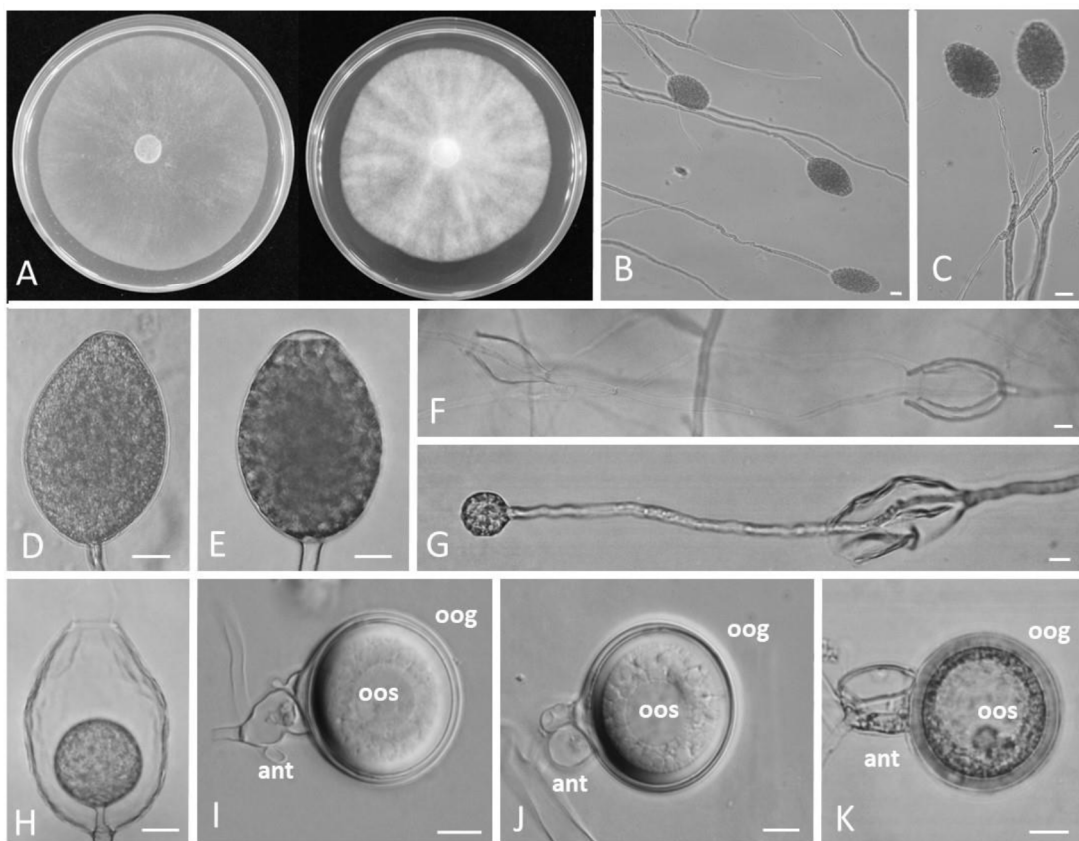


圖 4. 臺灣玫瑰疫病菌 *Phytophthora nagaii* (菌株 Ph-317) 的形態、玫瑰疫病菌

Phytophthora bisheria 之型態。培養於 V8 (左) 及 PDA (右) 培養基之菌落型態 (A)；孢囊柄不分枝 (B, C)；未成熟 (D) 及成熟 (E) 孢囊卵形不具乳突；孢囊內嵌外展增生 (F, G) 或由巢內增生 (H)；藏卵器 (oog)；卵孢子 (oos)；藏精器 (ant) 側著 (I, J) 及底著 (K)。橫線條代表長度 10μm。(引用自 Yuan *et al.* 2020)

Fig. 4. Morphology of *Phytophthora nagaii* isolate Ph-308. Colony pattern of *P. nagaii*



圖 5. 利用近鄰結合法(neighbor-joining)進行以核醣體非轉錄區間(ITS)核酸序列建構臺灣玫瑰疫病菌(Ph-94, 307, 308, 109, 310, 314, 317)與其他親緣相近之疫病菌 rDNA-ITS 核酸序列親緣關係圖。(引用自 Yuan *et al.* 2020)

Fig. 5. Phylogenetic tree of *Phytophthora* spp. isolated from rose plants with other related *Phytophthora* spp. based on ITS sequences by using neighbor-joining analysis.
(Reference from Huang *et al.* 2019)

表 1、卵菌和真菌之間不同的典型特徵

Table 1. Typical features that differ between oomycetes and fungi.

Character	Oomycetes	True Fungi
Sexual reproduction	Oospores	Zygospores, ascospores, basidiospores
Nuclear state of vegetative mycelium	Diploid; no septa	Haploid or dikaryotic; mostly septate
Cell wall composition	Beta glucans, cellulose	Chitin; rarely cellulose
Type of flagella on zoospore	Two types; whiplash at tail end, ciliated at front end	One type if produced; whiplash at tail end
Mitochondria	With tubular cristae	With flattened cristae

www.apsnet.org/edcenter/intropp/LabExercises/Pages/Oomycetes.aspx; Alexopoulos *et al.* 1996.

表 2. 植物病原卵菌分類簡表（主要列入植物病原菌部分）

Table 2. A brief table of classification of plant pathogenic oomycetes

	Introductory Mycology Alexopoulos and Charles (1996)	Hyphochytriomycota and Oomycota Beakes and Thines 2017	Mycobank (www.mycobank.org) (The International Mycological Association)
界 (Kingdom)	Stramenopila (原生藻界)	Chromista (色藻界)	Chromista (色藻界)
門*	*Oomycota (卵球菌門)	*Oomycota (卵球菌門)	*Oomycota (卵球菌門)
(Phylum)	**Oomycetes (卵球菌綱)	Oomycetes	**Peronosporomycetes
綱**	***Saprolegniales (水霉目)	**Saprolegniomycetes (水霉綱)	***Albuginales (白銹菌目)
(Class)	****Saprolegniaceae(水霉科)	***Saprolegniales (水霉目)	****Albuginaceae (白銹菌科)
目***	***** <i>Achlya</i> (綿霉屬),	****Saprolegniaceae (水霉科)	*****白銹菌 (<i>Albugo</i> , <i>Pustula</i> , <i>Wilsoniana</i>)
(Order)	Aphanomyces (絲囊霉屬),	***** <i>Achlya</i> (綿霉屬), <i>Dictyuchus</i>	**Oomycetes (卵球菌綱)
科****	Dictyuchus (網囊霉屬), Saprolegnia	(網囊霉屬), <i>Saprolegnia</i> (水霉屬) ...	***Saprolegniales (水霉目)
(Family)	(水霉屬)	****Verrucalveae	****Saprolegniaceae (水霉科)
屬*****	***Peronosporales(露菌目)	***** <i>Aphanomyces</i> (絲囊霉屬)...	**** <i>Achlya</i> , <i>Dictyuchus</i> , <i>Saprolegnia</i> ...
(Genus)	****Peronosporaceae(露菌科)	**Peronosporomycetes (露菌綱)	****Leptolegniaceae
	*****露菌 (7 個屬)	***Albuginales (白銹菌目)	***** <i>Aphanomyces</i> ...
	****Albuginaceae (白銹菌科)	****Albuginaceae (白銹菌科)	***Peronosporales (露菌目)
	*****Albugo (白銹菌屬)	*****白銹菌 (<i>Albugo</i> , <i>Pustula</i> , <i>Wilsoniana</i>)	****Peronosporaceae (露菌科)
	****Pythiaceae (腐霉菌科)	***露菌目 (Peronosporales)	**** <i>Phytophthora</i> (疫病菌屬), 露菌 (20 屬)
	***** <i>Pythium</i> (腐霉菌屬), <i>Phytophthora</i> (疫病菌屬)	****露菌科 (Peronosporaceae)	***Pythiales (腐霉菌目)
		***** <i>Phytophthora</i> (疫病菌屬), <i>Phytophythium</i> (疫病菌屬), 露菌 (20 個屬)...	****Pythiaceae (腐霉菌科)
		****Pythiaceae (腐霉菌科)	***** <i>Pythium</i> (腐霉菌屬), <i>Phytophythium</i> (疫病 菌屬), <i>Peronophythora</i> (露疫菌屬)...
		***** <i>Pythium</i> (腐霉菌屬), <i>Pythiogeton</i> (亞腐霉菌屬),	****Pythiogetonaceae (亞腐霉菌科)
			***** <i>Pythiogeton</i> (亞腐霉菌屬)

參考資料：Introductory Mycology (Alexopoulos and Charles 1996)、Hyphochytriomycota and Oomycota (Beakes and Thines 2017) 以及真
生物多樣性研究中心(Centraalbureau voor Schimmelcultures fungal biodiversity center) 的線上資料庫 MycoBank

表 3. 臺灣玫瑰疫病菌(Ph-308, Ph-317)之形態描述 (引用自 Yuan et al. 2020)
Table 3. Morphology description of *Phytophthora* spp. which caused root and basal stem rot of rose in Taiwan.

Character	<i>Phytophthora nagaii</i> ⁽⁹⁾	Ph-308	<i>Phytophthora bisheria</i> ⁽¹⁾	Ph-317
Hyphal swellings	Spherical irregular, clustered	Spherical irregular, clustered	not observed	not observed
	Mean diameter (μm)	25 ± 9	-	-
Chlamydospore	Present	Present	not observed	not observed
Sporangiophore	Unbranched or simple sympodial	Unbranched or sometimes simple	Unbranched (simplicia)	Mostly unbranched or simple sympodial
Sporangia	Terminal, ellipsoid, ovoid eccentric basal point	Terminal, ellipsoid, ovoid eccentric basal point	Ovoid, obpyriform, ovoid-obpyriform, obturbinate, globose or irregular	Ovoid, ovoid-obpyriform
	Size (μm)	26.8–79 × 23.7–55.4 (avg. 46.7 × 35.4)	45.0–91.0 × 35.5–70.0 (avg. 73.0 × 55.1)	46.3–76.9 × 32.3–60.6 (avg. 62.1 × 45.8)
			obpyriform sporangia 42–72 × 24–36; globose on average 22.8	Globose rare
	L/B ratio	1.35	1.32	1.36
	Papilla	Nonpapillate	Nonpapillate	semipapillate
	Proliferation	Internal, extended nested or external	Internal, extended nested or external	No
	Caducity	No	No	No
Exit pore	width (μm)	6.7–24.6 (avg. 14.7)	9.3 – 20.8 (avg. 16.0)	4.0–10.5 (avg. 7.5)
Oogonia		Smooth	Smooth	Smooth
	Shape	Spherical, funnel-shaped base, distorted	Spherical, funnel-shaped base	Spherical
	Size (μm)	32.2–53.3 (avg. 40.0)	29.6 –45.5 (avg. 38.0)	23.5–34.5 (avg. 28.7)

Character		<i>Phytophthora nagaii</i> ⁽⁹⁾	Ph-308	<i>Phytophthora bisheria</i> ⁽¹⁾	Ph-317
Sexual system		Homothallic	Homothallic	Homothallic	Homothallic
Oospore		Aplerotic	Aplerotic	Aplerotic	Aplerotic
	Size (µm)	29.5–47.7 (avg. 37.6)	23.1–40.9 (avg. 31.5)	25–31 (avg. 28.0)	19.7–32.6 (avg. 26.2)
	Wall thickness (µm)	3.3 ± 0.5	-	4.0–6.0	
Antheridium		Mostly paragynous, some amphigynous	Mostly paragynous, some amphigynous	paragynous	paragynous
	Size (µm)	13.5–28.1 × 10.7–15.3 (avg. 19.1 × 13.5)	11.0–22.7 × 9.1–19.0 (avg. 16.7 × 14.6)	-	7.1–14.8 × 7.0–11.0 (avg. 9.8 × 8.5)
Optimum growth (°C)		28	28	26	28
Maximum growth (°C)		33	33	32	34
Minimum growth (°C)		5	8	10	16
Growth rate (mm/d)		11.8	7	3.7–4.9	12

Classification and identification of important plant-pathogenic oomycetes

Jin-Hsing Huang ^{1,*} and Pao-Jen Ann ²

¹ Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

² Former Research Fellow and Director, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC

Abstract

Although oomycetes are phylogenetically close to some algae, some of their morphology and biological characteristics are similar to fungi. So, they are also called pseudo-fungi. Some members of the Oomycetes are important plant pathogens, causing economic losses in agriculture or damage to the landscape plants. Most of the pathogenic oomycetes (more than one thousand species) belong to the Order Peronosporales, some to the Order Albuginales, and a few to the Order Saprolegniales. Conventionally, morphology is the basic characters for oomycetes classification and identification. However, with the development of molecular biotechnology, the taxonomic systems of plant pathogenic oomycetes were modified frequently in the decades. Some old genera and species were split or reclassified, and more new species were discovered and named. In addition to the morphological characteristics, the phylogeny of nucleic acid sequences supports precise information for the identification of plant pathogenic oomycetes. Therefore, morphological characteristics and molecular phylogeny are essential for the classification and identification of plant pathogenic oomycetes.

Key words: Oomycetes, pseudo-fungi, plant diseases

*Corresponding author.

E-mail: jhhuang@tari.gov.tw

茄科作物檢疫病毒與類病毒檢測平台在植物防檢疫之應用

鄭櫻慧^{1,*} 林雅雯¹ 陳金枝¹ 王昭月² 林鳳琪³

¹ 行政農業委員會農委會農業試驗所植物病理組。台灣 台中市。

² 行政農業委員會農委會農業試驗所生物技術組。台灣 台中市。

³ 行政農業委員會農委會農業試驗所應用動物組。台灣 台中市。

摘要

茄科作物包含番茄、番椒、茄子與馬鈴薯等重要經濟作物，許多重要之病毒與類病毒會藉由茄科種子攜帶傳播，造成作物嚴重損失。國際間茄科種子貿易頻繁，國外輸入種傳病原風險將急劇升高。動植物防疫檢疫局根據風險評估結果針對輸入茄科種子種苗擬定國際間 6 種重要檢疫類病毒，包括馬鈴薯紡錘形塊莖類病毒 (potato spindle tuber viroid, PSTVd)、番茄褪綠矮化類病毒 (tomato chlorotic dwarf viroid, TCDVd)、鯨魚藤潛隱類病毒 (Columnea latent viroid, CLVd)、番椒小果類病毒 (pepper chat fruit viroid, PCFVd)、番茄莖頂矮化類病毒 (tomato apical stunt viroid, TASVd) 和番茄植株雄化類病毒 (tomato planta macho viroid, TPMVd) 與 4 種病毒，包括番茄褐色皺果病毒 (tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV)、番茄斑駁嵌紋病毒 (tomato mottle mosaic virus, ToMMV)、香瓜茄嵌紋病毒 (pepino mosaic virus, PepMV) 及番茄黃化捲葉病毒 (tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) 為進口檢疫項目。農試所建立之上述 10 種病毒與類病毒之核酸檢測平台，除了應用於邊境監測之進口茄科種子檢測，也使用於田間監測，防止國內尚未發生的茄科重要病毒及類病毒傳播進入我國造成危害，提升我國茄科種子種苗之國際競爭力並確保茄科產業持續發展。

關鍵詞：茄科、馬鈴薯紡錘形塊莖類病毒、番茄褪綠矮化類病毒、鯨魚藤潛隱類病毒、番椒小果類病毒、番茄莖頂矮化類病毒、番茄植株雄化類病毒、番茄褐色皺果病毒、番茄斑駁嵌紋病毒、香瓜茄嵌紋病毒、番茄黃化捲葉病毒

*論文聯繫人

前言

茄科作物是目前全球重要的經濟作物之一，也是台灣重要的蔬菜作物。茄科蔬菜主要包括番茄、番椒、茄子及馬鈴薯，其中番椒又可分為甜椒及辣椒二類。根據 109 年農業統計資料，種植面積達 10,556 公頃，產值約 6,697,000 千元。110 年番茄種子出口值即接近 4 千萬元，僅次於果樹種子與西瓜種子，排行第 3，是我國種子產業主力。國際市場調查也評估，2020 年至 2025 年全球番茄種子總需求量還有上升 7.9% 的空間，相對的，番茄種傳病原檢疫的需求預估也會日漸提高。

感染茄科作物的病毒中，可以種子帶毒或經由種子傳毒的病毒超過 26 種，類病毒有 9 種，其中 *Tobamovirus* 屬的番茄褐色皺果病毒 (tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV)、番茄斑駁嵌紋病毒 (tomato mottle mosaic virus, ToMMV)；Potexvirus 屬的香瓜茄嵌紋病毒 (pepino mosaic virus, PepMV)；*Nepovirus* 屬的番茄輪斑病毒 (tomato ringspot virus, ToRSV) 等病毒和馬鈴薯紡錘形塊莖類病毒 (potato spindle tuber viroid, PSTVd)、番茄褪綠矮化類病毒 (tomato chlorotic dwarf viroid, TCDVd)、鯨魚藤潛隱類病毒 (columnea latent viroid, CLVd)、番椒小果類病毒 (pepper chat fruit viroid, PCFVd)、番茄莖頂矮化類病毒 (tomato apical stunt viroid, TASVd) 和番

茄植株雄化類病毒 (tomato planta macho viroid, TPMVd)、菊花矮化類病毒 (chrysanthemum stunt viroid, CSVd) 等 7 種類病毒為國際間檢疫常見項目。我國已將 ToBRFV、ToMMV、PepMV、TYLCV 等 4 病毒與 PSTVd、TCDVd、CLVd、PCFVd、TASVd 及 TPMVd 等 6 類病毒 (表 1) 列為茄科種子進境檢疫項目。

種子傳播的病毒 ToBRFV、ToMMV、PepMV 不侵入種子內部，以汙染種殼方式藉由種子進行長距離傳播，也可藉由嫁接等操作在種苗間傳播。不同於前述 3 種病毒，國外有報告指出 TYLCV 存在種子內部 (Kil *et al.* 2016)。種子傳播類病毒的特性為侵入種殼內的胚乳及胚軸等部位，無法藉由表面消毒去除。類病毒會造成作物產量減少引起嚴重的經濟損失，但因感染作物種類或品種不同，而引起嚴重病徵，除了種子之外，類病毒亦可藉由無性繁殖、機械傳播及花粉傳播。因病毒與類病毒病害無法以藥劑防治，因此在防治上以拒病及除病為主要防治方法，拒病主要是藉由檢疫、種子檢查與清潔種苗為主要方法，可以阻止新的病蟲害從疫區傳播到新的地區造成危害。目前台灣仍非 ToBRFV、ToMMV、PepMV、TYLCV、PSTVd、TCDVd、CLVd、PCFVd、TASVd 及 TPMVd 之疫區，因此防檢局將其列為進境檢疫項目，以維持非疫區地位，避免病毒與類病毒入侵對產業造成危害。

簡介檢疫病毒與類病毒

馬鈴薯紡錘形塊莖類病毒、番茄褪綠矮化類病毒、鯨魚藤潛隱類病毒、番椒小果類病毒、番茄莖頂矮化類病毒和番茄植株雄化類病毒等 6 種類病毒

列茄科作物檢疫榜的有馬鈴薯紡錘形塊莖類病毒 (PSTVd)、番茄褪綠矮化類病毒 (TCDVd)、鯨魚藤潛隱類病毒 (CLVd)、番椒小果類病毒 (PCFVd)、番茄莖頂矮化類病毒 (TASVd) 和番茄植株雄化類病毒 (TPMVd) 等 6 種 (Verhoeven *et al.* 2006, 2009)，都屬於 *Pospiviroid* 屬，由單鏈環狀的微小裸露 RNA 組成，病原分子有高度互補的二級結構因此非常穩定。PSTVd 早在 1920 年代就發現於美國，是最早被發現的類病毒 (De Hoop *et al.* 2008)。6 種類病毒之中，除了 PSTVd 和 CLVd 之外，其他 4 種類病毒危害作物局限於茄科植物；PSTVd 的寄主除了茄科作物之外，主要還有樟科的酪梨 (*Persea Americana* M.) (Querci *et al.* 1995)，而 CLVd 除了茄科寄主，還感染大岩桐 (*Gloxinia* sp.) 等。類病毒可以經由汙染種子或侵入種殼內的胚乳胚軸等部位 2 種方式種子傳播，侵入種殼內的類病毒無法藉由表面消毒去除。除了種子之外，無性繁殖、花粉、嫁接、授粉昆蟲及機械性傷口也可以傳播類病毒。類病毒對植物造成的影響因品種而異，因感染作物種類或品種不同，引起病徵程度不一：(1) 植株頂端生長緩慢及黃化，隨後植

株矮化及葉片變紅或變紫，當植株矮化時，花及果實也停止生長。(2) 植株生長正常，但嚴重影響開花結果或塊根生長。(3) 無病徵感染，不影響生長與產量。其中尤以無病徵或輕微感染的寄主植物，類病毒可藉其生產的種子散佈。與病毒病害相同，類病毒病害也無法以藥劑防治，因此在防治上以拒病及去除病原為主要防治方法，拒病主要是藉由檢疫及種子檢查為主要方法，拒絕新的病蟲害從疫區傳播到新的地區造成危害。

番茄褐色皺果病毒與番茄斑駁嵌紋病毒

番茄褐色皺果病毒 (ToBRFV) 與番茄斑駁嵌紋病毒 (ToMMV) 都是 *Tobamovirus* 屬病毒。自然界發現危害茄科作物病毒計有 12 種之多，其中的 ToBRFV 與 ToMMV 因為可以克服番茄重要的抗病基因 *Tm-2²*，而受到國際間高度重視 (Nagai *et al.* 2019)。ToBRFV 最早於 2015 年約旦發現的病毒 (Salem *et al.* 2016)，除了約旦之外，加拿大、墨西哥、美國、德國、希臘、義大利、英國、以色列、中國、及北巴勒斯坦都有發現 ToBRFV 的報告。ToMMV 則於 2013 年墨西哥發現的病毒 (Li *et al.* 2013)，目前美國、中國、以色列和西班牙也有發生報告。ToBRFV 主要感染番茄及番椒屬植物，ToBRFV 在番茄植株上引起嚴重或輕微不等的病徵，病徵嚴重程度取決於特定栽培品種、感染時間、寄主的發育階段和環境條件等。在葉子的病徵，最常見的是葉子出現嵌紋，靠近

頂端的較嫩葉片出現褪綠斑駁和葉子變形。有些報告指出病毒感染引起莖、花梗和花萼局部壞死，有時花朵也會受到影響出現萎凋。果實最常見的症狀著色不均的黃綠色大理石狀斑塊。帶有變色和變形的褐色皺紋病徵的嚴重程度取決於栽培品種、感染時間和可能的環境條件。ToMMV 的寄主範圍為茄科、莧科及馬鞭草，感染的番茄植株葉片變形、嵌紋、斑駁和壞死，在接種試驗中，感病番茄嚴重矮化，落花，著果不良。中國大陸的番椒作物的爆發 ToMMV 引起病害，受影響的植物表現出葉斑、萎縮和壞死。ToBRFV 與 TMMV 的傳播方式有手、衣物、刀具設備等造成的機械傷口、種子、花粉及無性繁殖等，因病毒顆粒穩定，使設施栽培之番茄番椒易受汙染棚架設施傳毒而感染，露天栽培者容易因授粉昆蟲攜帶病毒感染，各國莫不努力尋找有效的抗應基因。

香瓜茄嵌紋病毒

香瓜茄嵌紋病毒 (PepMV) 為 *Potexvirus* 屬病毒，原發生於秘魯 (Jones *et al.* 1980)，1999 年在荷蘭與英國發現，之後傳遍歐洲、美洲與亞洲等地 (Jordá *et al.* 2001 ; French *et al.* 2001)。PepMV 主要寄主為茄科植物，例如番茄 (*S. lycopersicum*)、茄子 (*S. melongena*) 香瓜茄 (*S. muricatum*) 及馬鈴薯 (*S. tuberosum*) 與脣形科的羅勒 (*Ocimum basilicum*) (Blystad *et al.* 2015)。PepMV 引起的病徵非

常多變，植株感染初期葉片將出現黃化斑點、起泡、褪綠，接著老葉可能會出現黃化角斑，心葉出現輕微捲曲，莖頂、葉柄出現壞疽，果實著色不均出現大理石斑紋與裂果，使果實失去經濟價值。PepMV 症狀的嚴重程度是依環境、病毒分離株與栽培品種而有不同。PepMV 以器械接觸進行短程傳播。受感染植株的根部受損或死亡時，病毒顆粒很可能會釋放到土壤或排水中，成為感染原。PepMV 也可藉由種子、花粉進行較長距離傳播 (Hanssen *et al.* 2010)。

番茄黃化捲葉病毒

番茄黃化捲葉病毒 (TYLCV) 屬於 *Geminiviridae* 科 *Begomovirus* 屬。於 1959 年於以色列首次發現，1970 年代於中東地區爆發流行，之後逐漸擴散至亞洲、非洲、北美洲、中南美洲、歐洲、大洋洲等各大洲，目前已有超過 70 個國家遭受危害 (Navot *et al.* 1981)。TYLCV 感染番茄導致植株的幼葉和枝條嚴重發育不良，新芽叢生、植株矮化。感病植株的葉緣向上和向內捲曲、小葉葉脈間變黃和明顯的植株發育不良。TYLCV 感染顯著降低著果率，尤其是在開花期發生感染時。受感染植株的果實沒有明顯的症狀，但果實會變小。TYLCV 主要寄主為番茄 (*S. lycopersicum*)，自然界其他寄主還包括茄子 (*S. melongena*)、馬鈴薯 (*S. tuberosum*) 及番椒 (*Capsicum annuum*, *C. frutescens*)、煙草 (*Nicotiana tabacum*)、豇豆

(*Phaseolus vulgaris*)、矮牽牛 (*Petunia hybrida*) 和桔梗 (*Eustoma grandiflorum*)，數種野生番茄為無病徵寄主。在歐洲塞浦路斯進行的一項調查顯示，包含 15 科 49 種的植物為 TYLCV 的寄主。自然界中 TYLCV 主要由煙草粉蝨以永續型方式傳播，帶毒粉蝨的卵中可測到 TYLCV，但未有明確證據證明 TYLCV 可經由粉蝨的卵傳至子代。TYLCV 無法機械傳播。2016 年韓國學者報告番茄黃化捲葉病毒-IL (TYLCV-IL) 感染之番茄、番椒與豆類等作物時，TYLCV-IL 可以經由種子傳播，種胚內也可測到病毒存在 (Kil *et al.* 2016; 2017)，但其他學者未能重複此試驗，推測種子傳毒可能只限於特定分離株 (Pérez-Padilla *et al.* 2020)。

核酸檢測平台之建立

病毒的鑑定方法有很多，早期多以病毒形態、病徵、血清學分析等方式進行，尤其是 ELISA，已被廣泛作為用於植物病毒的免疫檢測方法，它的優點有可以處理大量樣本、高靈敏度、使用方便快速和定量檢測，其缺點是同屬病毒種間親緣性高，容易造成病毒鑑定的誤判。隨著分子生物學檢測技術的進步，以病毒基因體做為偵測標的變得普遍，最常用的診斷技術是 PCR 或 RT-PCR，還可以用於區分同一病毒群中的特定和非特定成員。由於它們的靈敏度高，還可以克服植物組織中低病毒濃度的問題。4 種茄科檢疫病毒中，TYLCV 所屬的 *Begomovirus* 病毒屬因病毒

濃度關係，不易以 ELISA 檢測，以 PCR 為檢測主力。PepMV 屬於 *Potexvirus* 病毒屬，本屬病毒適用 ELISA 或 RT-PCR 等核酸檢測。*Tobamovirus* 病毒屬的 ToBRFV 與 ToMMV 適用 ELISA 或 RT-PCR 等核酸檢測，但 ToBRFV、ToMMV 與番茄上常見的番茄嵌紋病毒 (tomato mosaic virus, ToMV) 因為基因體相同度約為 81%，而被分類成不同病毒，但其鞘蛋白相同度高於 90%，與傳統上以鞘蛋白免疫白兔製備的多元抗體反應，產生的交叉反應不意外非常強烈 (Letschert *et al.* 2002)，因此很難以 ELISA 等免疫方法檢測，以具有專一性的單株抗體或利用核酸相同度低的區域設計引子之核酸檢測法才能避免病毒相互干擾，為可行的檢測方法，但單株抗體製備耗費時日。因此根據基因體核酸差異大的區域設計對，建立 ToBRFV 與 ToMMV 專一性核酸檢測系統，為實務上可行方法。

類病毒僅只由 RNA 組成，無法以抗血清來進行檢測，已知的檢測方法包含生物檢定法、核酸雜合法 (Welnicki & Hiruki 1992)、反轉錄-聚合酶連鎖反應、即時聚合酶連鎖反應、定量即時聚合酶連鎖反應及恆溫環狀擴增反應等 (Mumford *et al.* 2000)。近年來以反轉錄-聚合酶連鎖反應與即時聚合酶連鎖反應於類病毒檢測上應用最多。使用生物檢定法需有合適的寄主，在檢測上較為費時耗工，不適用於快速檢測。核酸雜合法雖可以靈敏且準確的用來檢測已知的類病毒，但操作

過程較為繁複，且可能無法檢測新種類病毒。近年來類病毒之檢測技術多是發展 RT-PCR 技術的延伸，例如以專一性引子對檢測單一類病毒 (Joung *et al.* 1997)、以多組專一性引子對同時檢測多種類病毒 (multiplex PCR) (Ito *et al.* 2002 ; Levy *et al.* 1992) 、單管單步驟進行的 one tube-one step RT-PCR 檢測多屬類病毒以及 Real-time RT-PCR 檢測 Posipiviroid 屬類病毒 (Boonham *et al.* 2004 ; Monger *et al.* 2010 ; Shamloul *et al.* 2002) 。RT-PCR 也是目前最常用來檢測類病毒的方式，利用類病毒高度保留區域設計簡併式引子對 (degenerated primer) 可用來檢測是否感染類病毒，或是使用專一性引子對來確認，此檢測方法可用來偵測雖感染類病毒卻無病徵之植株，有效地監測類病毒在田間的危害。

農試所已建立上述 10 種茄科種子種傳病毒與類病毒檢測系統，包含廣效性或種別專一性核酸檢測試劑，配合建立的改良茄科種子核酸萃取方法，得到快速準確穩定的檢測結果 (圖 1)。109 年開始執行進口邊境檢查，防止病毒與類病毒輸入我國而造成危害 (圖 2)。

檢測平台在植物防檢疫之應用

依據防檢局 110 年頒布之「茄屬及番椒屬種子輸入檢疫條件」，對於輸入茄科種子種苗進行國際間重要及新興病害包括 ToBRFV、ToMMV、PepMV、TYLCV 等 4 種病毒與

PSTVd、CLVd、TASVd、TCDVd、TPMVd、PCFVd 等 6 種類病毒進行邊境檢測。採樣種子數量由各機場之海關檢疫人員依 ISTA 規定採樣，採樣種子寄至中興大學或農試所進行病毒與類病毒檢測。因通過檢測之種子才能放行輸入，此檢測為在 10 工作天內完成之急件。檢測時以 100-200 顆種子為一樣本，種子磨碎後 (Li & Trick 2005) 再以市售核酸萃取試劑組進行核酸之萃取，得到快速穩定汙染率低之適用於種子總量 DNA 與 RNA。以此總量 DNA 與 RNA 為模板，進行以各檢測對象之專一性引子進行 PCR 或 RT-PCR，反應產物進行電泳分析，判讀種子是否攜帶監測之病毒或類病毒。未檢出之樣品即時通知寄件分局辦理後續放行事宜。檢出之樣本再行回收 PCR 或 RT-PCR 產物，進行定序確認。定序確認之樣品即時通知寄件分局辦理後續事宜。

田間監測之檢測標的與輸入種子檢測相同。監測工作由防檢局、各改良場所與農試所合作進行。樣本採集依據各改良場所轄區番茄、番椒與茄子等茄科作物栽培面積規劃採集點，每一採集點視栽培面積採 10-20 個樣本，樣本總類數量與採集點座標登錄於雲端。採集樣本寄至農試所進行病毒與類病毒檢測。以每 1 監測點 10 個樣本混合成 1 樣本，以市售核酸萃取試劑組進行 DNA 與 RNA 之萃取，得到快速穩定汙染率低之適用於種子總量核酸。以此總量核酸為模板，進行以各檢測對象之專一性引子進行 PCR 或 RT-PCR，反

應產物進行電泳分析，判讀種子是否攜帶監測之病毒或類病毒。檢出之樣本則回收 PCR 或 RT-PCR 產物，進行定序確認。確定檢出採集點樣本再逐一萃取 DNA 與 RNA，得到單一樣本總量核酸，進行 PCR 或 RT-PCR 檢測，了解監測點之感染率。檢測結果亦於雲端登錄，使防檢局能盡速採取應對措施。

結論

茄科作物的病害種類繁多，許多重要之病毒與類病毒病原會藉由茄科種子攜帶傳播，一批種子中即使只有極少量的種子攜帶病原，但輸入後種植於本田，將會成為感染源，進行二次擴散感染，增加防治費用之外，也造成農作物嚴重損失。在國際物流迅速與全球化下的大環境下，國外輸入之植物種類趨向繁雜與多樣性，且輸入國別持續增加，國內尚未發生之疫病蟲害侵入風險將急劇升高。因病毒與類病毒病害無法以藥劑防治，因此在防治上以拒病及除病為主要防治方法，拒病主要是藉由檢疫、種子檢查與清潔種苗為主要方法，可以阻止新的病蟲害從疫區傳播到新的地區造成危害。危害茄科作物的病毒與類病毒之中，ToBRFV、ToMMV、PepMV、TYLCV、PSTVd、TCDVd、CLVd、PCFVd、TASVd 及 TPMVd 為國際貿易常見檢疫項目，目前台灣仍為這些病毒與類病毒的非疫區，這些重要茄科作物種子傳播之病毒與類病毒病原若進入與立足於我國，將對番茄及番椒等茄科產業造成衝擊。若淪為疫區，也將影響外銷茄科

種子品質與競爭力。因此防檢局依據風險評估，於 110 年 2 月將這 10 種病毒與類病毒列為進境檢疫項目。邊境檢測在正式公告前的 109 年 9 月起即針對輸入茄屬及番椒屬種子及種苗進行取樣監測，監測至今已發現多批番茄、番椒、茄子或矮牽牛種子被檢出檢疫規定之有害生物，阻絕這些有害生物進入與立足。

參考文獻

- Blystad D.-R., R. Van der Vlugt, A. Alfaro-Fernández, M. Carmen Córdoba, G. Bese, D. Hristova, H. Pospieszny, N. Mehle, M. Ravnkar, L. Tomassoli, C. Varveri, and S. L. Nielsen. 2015. Host range and symptomatology of Pepino mosaic virus strains occurring in Europe. *Eur. J. Plant Path.* 143:43–56.
- Boonham, N., L. González Pérez, M. S. Mendez, E. L. Peralta, A. Blockley, K. Walsh, I. Barker, and R. A. Mumford. 2004. Development of a real-time RT-PCR assay for the detection of Potato spindle tuber viroid. *J. Virol. Methods* 116:139–146.
- De Hoop, M. B., J. T. J. Verhoeven, and J. W. Roenhorst. 2008. Phytosanitary measures in the European Union: a

- call for more dynamic risk management allowing more focus on real pest risks. Case study: Potato spindle tuber viroid (PSTVd) on ornamental Solanaceae in Europe. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 38:510–515.
- French, C. J., M. Bouthillier, M. Bernardy, G. Ferguson, M. Sabourin, R. C. Johnson, C. Masters, S. Godkin, and R. Mumford.** 2001. First report of Pepino mosaic virus in Canada and the United States. *Plant Disease* 85:1121.
- Hanssen, I. M., R. Mumford, D.-R. Blystad, I. Cortez, B. Hasiów-Jaroszewska, D. Hristova, I. Pagán, A.-M. Pereira, J. Peters, H. Pospieszny, M. Ravnkar, I. Stijger, L. Tomassoli, C. Varveri, R. van der Vlugt, and S. L. Nielsen.** 2010. Seed transmission of Pepino mosaic virus in tomato. *Eur. J. Plant Path.* 126:145–152.
- Ito, T., H., Ieki, and K. Ozaki.** 2002. Simultaneous detection of six citrus viroids and apple stem grooving virus from citrus plants by multiplex reverse transcription polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods* 106:235–239.
- Jones, R. A. C., R. Koenig, and D. F. Lesemann.** 1980. Pepino mosaic virus, a new Potexvirus from pepino (*Solanum muricatum*). *Ann. Appl. Biol.* 94:61–68.
- Jordá, C., A. Lázaro-Pérez, P. Martínez-Culebras, and P. Abad.** 2001. First report of Pepino mosaic virus on tomato in Spain. *Plant Disease* 85:1292.
- Joung, Y., J. Jeon, K. Choi, H. Kim, and H. Joung.** 1997. Detection of Potato spindle tuber viroid using RT-PCR technique. *Kor. J. Plant Pathol.* 13:205–209.
- Kil, E. J., J. Park, H. S. Choi, C. S. Kim, and S. Lee.** 2017. Seed Transmission of Tomato yellow leaf curl virus in White Soybean (*Glycine max*). *Plant Pathol. J.* 33:424–428.
- Kil, E. J., S. Kim, Y. J. Lee, H. S. Byun, J. Park, H. Seo, C. S. Kim, J. K. Shim, J. H. Lee, J. K. Kim, K. Y. Lee, H. S. Choi, and S. Lee.** 2016. Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV-IL): a seed-transmissible geminivirus in tomatoes. *Sci. Rep.* 6: 19013.
- Levy, L., A. Hadidi, and S. M. Garsney.** 1992. Reverse transcription polymerase chain reaction assays for

- the rapid detection of citrus viroids using multiplex primer sets. *Proc. Int. Soc. Citricult.* 106:800–803.
- Letschert, B., A. Guñter, L. Dietrich-Eckhardt, P. Willingmann, and C. Heinze.** 2002. Detection and differentiation of serologically cross-reacting tobamoviruses of economical importance by RT-PCR and RT-PCR-RFLP. *J Virol Methods* 106:1–10.
- Li, R., S. Gao, Z. Fei, and K. S. Ling.** 2013. Complete genome sequence of a new tobamovirus naturally infecting tomatoes in Mexico. *Genome Announcements* 1: e00794-e00713.
- Li, Z. and H. N. Trick.** 2005. Rapid method for high-quality RNA isolation from seed endosperm containing high levels of starch. *BioTechniques* 38:872–876.
- Monger, W., J. Tomlinson, N. Boonham, M. V. Marn, I. M. Plesko, V. Molinero-Demilly, X. Tassus, E. Meekes, M. Toonen, L. Papayiannis, Z. Perez-Egusquiza, N. Mehle, C. Jansen, and S. L. Nielsen.** 2010. Development and inter-laboratory evaluation of real-time PCR assays for the detection of pospiviroids. *J. Virol. Methods* 169:207–210.
- Mumford, R.A., K. Walsh, and N. Boonham.** 2000. A comparison of molecular methods for the routine detection of viroids. *Bull. OEPP/EPPO Bull.* 30:431–435.
- Nagai, A., L. M. L. Duarte, A. L. R. Chaves, L. E. P. Peres, and D. Y. A. C. dos Santos.** 2019. Tomato mottle mosaic virus in Brazil and its relationship with Tm-22 gene. *Eur J Plant Pathol.* 155:353–359.
- Navot, J. E., E. Pichersky, M. Zeidan, and D. Zamir.** 1991. Tomato Yellow Leaf Curl Virus: A Whitefly-Transmitted Geminivirus with a Single Genomic Component. *J. Virol.* 185:151–161.
- Pérez-Padilla, V., I. M. Fortes, B. Romero-Rodríguez, M. Arroyo-Mateos, A. G. Castillo, C. Moyano, L. D. León, and E. Moriones.** 2020. Revisiting seed transmission of the type strain of tomato yellow leaf curl virus in Tomato Plants. *Phytopathology* 110:121–129.
- Querci, M., R. A. Owens, C. Vargas, and L. F. Salazar.** 1995. Detection of potato spindle tuber viroid in avocado

- growing in Peru. *Plant Disease* 79:196–202.
- Salem, N., A. Mansour, M. Ciuffo, B. W. Falk and M. Turina.** 2016. A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. *Arch Virol.* 161:503–506.
- Shamloul, A. M., F. Faggioli, J. M. Keith, and A. Hadidi, A.** 2002. A novel multiplex RT-PCR probe capture hybridization (RT-PCR-ELISA) for simultaneous detection of six viroids in four genera: Apscaviroid, Hostuviroid, Pelamoviroid, and Pospiviroid. *J. Virol. Methods* 105:115–121.
- Verhoeven, J. T. J., C. C. C. Jansen, T. M. Willemsen, L. F. F. Kox, R.A. Owens, and J. W. Roenhorst.** 2004. Natural infections of tomato by Citrus exocortis viroid, Columnea latent viroid, Potato spindle tuber viroid and Tomato chlorotic dwarf viroid. *European Journal of Plant Pathology* 110:823–831.
- Welnicki, M., and C. Hiruki.** 1992. Highly sensitive digoxigenin-labelled DNA probes for the detection of Potato spindle tuber viroid. *J. Virol. Methods* 39:91–99.

表 1: 檢疫病毒與類病毒之學名、英名、簡稱、自然寄主與地理分布。

Table 1: Scientific name, English name, abbreviation, natural host and geographical distribution of quarantine virus and viroid.

中名	學名	英名/簡稱	自然寄主	地理分布
馬鈴薯紡錘形塊莖類病毒	<i>Potato spindle tuber viroid</i>	potato spindle tuber viroid/ PSTVd	馬鈴薯、番茄、番椒、其他茄科植物、酪梨、菊科的大理花等、甘藷	歐洲：荷蘭等 18 國。 亞洲：阿富汗、孟加拉、中國、印度、伊朗、以色列、日本、哈薩克、巴基斯坦。 非洲：埃及、迦納、肯亞、奈及利亞、烏干達。 美洲：哥斯大黎加、多明尼加、墨西哥、祕魯、委內瑞拉。 大洋洲：澳洲。
番茄褪綠矮化類病毒	<i>Tomato chlorotic dwarf viroid</i>	tomato chlorotic dwarf viroid/ TCDVd	番茄、茄子	歐洲：捷克、法國、斯洛伐尼亞。 亞洲：印度。 美洲：美國、墨西哥。
金魚藤潛隱類病毒	<i>Columnea latent viroid</i>	columnea latent viroid/ CLVd	金魚藤、金魚吊蘭、鴛鴦葉草、大岩桐	歐洲：法國、義大利、荷蘭、葡萄牙。 亞洲：泰國。 非洲：迦納、馬利。 北美洲：美國、加拿大、哥斯大黎加。

番椒小果 類病毒	<i>Pepper chat fruit viriod</i>	pepper chat fruit viriod/ PCFVd	番椒、番茄	亞洲：泰國、越南。
番茄莖頂 矮化類病 毒	<i>Tomato apical stunt viroid</i>	tomato apical stunt viroid/ TASVd	番茄、藍花茄、 果醬木	歐洲：荷蘭等 11 國。 亞洲：印尼、以色列。 非洲：迦納、塞內、突 尼西亞。
番茄植株 雄化類病 毒	<i>Tomato planta macho viroid</i>	tomato planta macho viroid、 mexican papita viroid/ TPMVd	番茄、野生馬鈴 薯(<i>Solanum cardiophyllum</i>)	美洲：墨西哥
番茄褐色 皺果病毒	<i>Tomato brown rugose fruit tobamovir us</i>	tomato brown rugose fruit virus/ ToBRFV	番茄、番椒	歐洲：捷克、德國、希 臘、義大利、馬爾 他、荷蘭、波蘭、土 耳其、西班牙、英 國。 亞洲：中國、以色列、 約旦、巴勒斯坦。 美洲：美國、墨西哥。
番茄斑駁 嵌紋病毒	<i>Tomato mottle mosaic</i>	tomato mottle mosaic	番茄、茄子、番 椒	歐洲：西班牙。 亞洲：中國、以色列、 伊朗。

	<i>tobamovirus</i>	virus/ ToMMV		美洲：美國、墨西哥、 巴西。
香瓜茄嵌 紋病毒	<i>Pepino mosaic potexvirus</i>	pepino mosaic virus/ PepMV	番茄、茄子、香 瓜茄、馬鈴薯	歐洲：荷蘭等 25 國。 亞洲：中國、以色列、 敘利亞。 非洲：埃及、馬達加斯 加、摩洛哥、南非。 美洲：加拿大、美國、 墨西哥、智利、厄瓜 多爾、秘魯。
番茄黃化 捲葉病毒	<i>Tomato yellow leaf curl begomovirus</i>	tomato yellow leaf curl virus/ TYLCV	番茄、茄子、馬 鈴薯、番椒、煙 草、酪梨、豆 類、矮牽牛、洋 桔梗	非洲：阿爾及利亞等 17 國。 歐洲：法國等 10 國。 亞洲：中國等 21 國。 美洲：美國等 15 國。 大洋洲：澳洲。

(資料來源：CABI- <https://www.cabi.org/isc/datasheet/>)

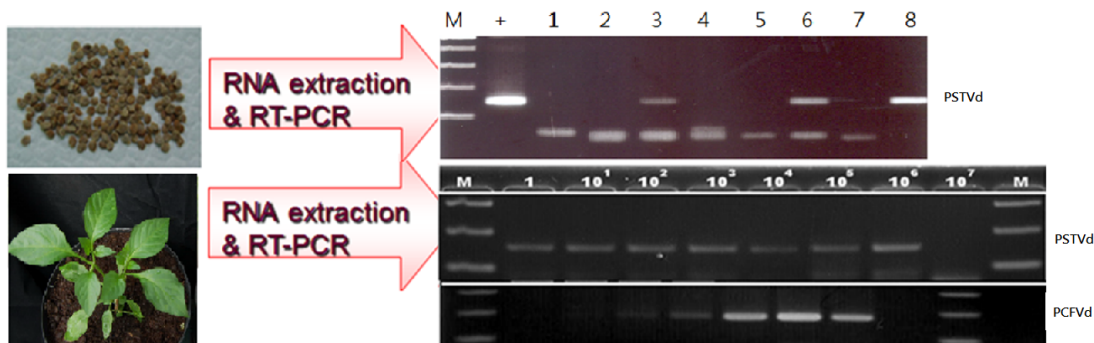


圖 1. 種子經核酸萃取後進行 RT-PCR，種子樣本檢出 PSTVd（上）。接種植株葉片經核酸萃取後進行 RT-PCR，測試反應靈敏度，稀釋 10^6 仍可檢出 PSTVd，稀釋 10^5 仍可檢出 PCFVd（下）。

Fig. 1. RT-PCR and electrophoresis were performed after nucleic acid extraction from seeds, and PSTVd was detected in seed samples (top). The leaves of the inoculated plants were subjected to RT-PCR after nucleic acid extraction to test the sensitivity of the reaction. PSTVd could be detected at a dilution of 10^6 , and PCFVd could be detected at a dilution of 10^5 (bottom).

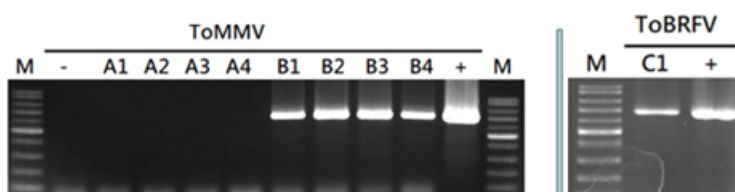


圖 2. 進口種子檢測，自不同輸入國之番茄種子分別檢出 ToMMV 或 ToBRFV。

Fig. 2. Imported seeds were tested, and ToMMV or ToBRFV were detected from tomato seeds of different input batches.

Application of Quarantine Viruses and Viroids of Solanaceae Crops Detection System in Plant Protection and Quarantine

Ying-Huey Cheng^{1,*}, Ya-Wen Lin¹, Chin-Chih Chen¹, Jau-Yueh Wang², and Feng-Chyi Lin³

¹Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

²Biotechnology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

³Applied Zoology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

Abstract

Solanaceae plants include many important economic crops such as tomatoes, peppers, eggplants, and potatoes. Many important viruses and viroids are carried and long distance transmission by seeds of Solanaceae crops, causing serious agricultural losses. The international trade in Solanaceae seeds is frequent, and the risk of imported seed-borne virus and viroids from abroad will increase significantly. Base on the results of the risk assessment, The Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine has designated the import quarantine items including six viroids and four viruses for imported Solanaceae seeds and seedlings. Six viroids including potato spindle tuber viroids (PSTVd), tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd), Columnea latent viroid (CLVd), pepper chat fruit viroid (PCFVd), tomato apical stunt viroid (TASVd) and tomato planta macho viroid (TPMVd) and four viruses, including tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV), tomato mottle mosaic virus (ToMMV), pepino mosaic virus (PepMV) and tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). The nucleic acid detection system for the aforementioned 10 viruses and viroids has been established by the Agricultural Research Institute. This system is not only used for border detection of imported Solanaceae seeds, but also for field monitoring to completely prevent these important

*Corresponding author.

E-mail: yhcheng@tari.gov.tw

viruses and viroids from entering Taiwan and endanger the agricultural system. These measures will enhance the international competitiveness of Solanaceae seeds and ensure the sustainable development of the industry.

Key words: Solanaceae, potato spindle tuber viroids (PSTVd), tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd), Columnea latent viroid (CLVd), pepper chat fruit viroid (PCFVd), tomato apical stunt viroid (TASVd), tomato planta macho viroid (TPMVd), tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV), tomato mottle mosaic virus (ToMMV), pepino mosaic virus (PepMV), tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)

我國植物檢疫線蟲之偵測鑑識現況與挑戰

謝孟珊¹ 楊爵因^{1,*}

¹ 國立臺灣大學植物病理與微生物學系。台灣 台北市。

摘要

植物線蟲種類繁多，物種間之型態、生物特性與生態地位皆具有豐富的多樣性。其體型微小、繁殖力強、環境適應力強，具有容易隨貿易貨品移動的特性，且入侵一地區之後不易完全滅除，每年對全球重要農業作物造成嚴重產量減損、森林損失以及景觀地貌之變化，為影響國際貿易甚鉅的重要生物因子。我國為世界貿易組織會員國，自國外輸入之農產品種類與數量眾多，有害生物隨之入侵之風險亦高。現行中華民國輸入植物或植物產品檢疫規定中，稻莖線蟲、穿孔線蟲、黃金線蟲為禁止輸入部分植物或植物產品之原因，而莖線蟲、馬鈴薯腐敗線蟲之相關寄主植物或植物產品則為有條件輸入。此外，我國管制有害生物清單列有其他 54 種線蟲。於邊境，防檢局對輸入植物或其產品進行抽樣，對攔截到之有害生物進行偵測鑑定。當確認有害生物之種類時，立即採取適當之檢疫措施。本文回顧相關法源規範，簡介重要線蟲種類、偵測鑑識技術，並檢視我國現行之制度。針對具有檢疫重要性之植物線蟲，目前我國主要採用型態鑑定與分子技術鑑定併行的鑑定方式。然而，受限於諸多重要生物學資訊、資源、人力的不完整性，欲快速且準確完成植物線蟲鑑定實屬不易。未來，我國須儘速進行大量專業人才的培育以補足人力缺口，並提升各單位儀器設備等級與數量，並積極進行植物線蟲鑑識新技術之開發與應用，以確保具檢疫重要性之植物線蟲鑑識效能。

關鍵詞：植物檢疫、植物寄生線蟲、偵測鑑定技術

*論文聯繫人

E-mail: jiueinyang@ntu.edu.tw

前言

以植物組織作為營養來源的線蟲，俗稱為植物寄生線蟲 (plant parasitic – nematodes) 或植物線蟲 (plant nematode)。全球已被描述的植物線蟲種類超過 4000 種，生物學歸類分屬於動物界 (Animalia)、蛻皮動物總門 (Ecdysozoa)、線蟲門 (Nematoda) 中的 4 個類群(clade): Clade 1 (Triplonchida)、Clade 2 (Dorylaimida)、Clade 10b (Aphelenchoidea)、Clade 12 (Tylenchida)。物種間之型態、生物特性與生態地位具有相當豐富的多樣性。植物線蟲侵害寄主植物的根、莖、葉、芽、種子等部位，輕則影響寄主生長發育，產生殘根、異常增生等病徵，重則導致植株矮化、黃化、萎凋、花器葉化、不產果或果實品質不佳，甚至死亡。植物線蟲每年對全球重要農業作物造成 10–20% 產量減損，亦可於短時間內導致大面積森林木材損失及景觀地貌之變化，保守估計導致超過 1 億 5 千萬美元的直接經濟損失 (Abad *et al.* 2008)。由於植物線蟲體型微小、繁殖力強、環境適應力強，具有容易隨貿易貨品移動的特性，且入侵一地區之後之經濟損害風險極高又不易完全滅除，使其為世界各國持續共同關切的議題，為影響國際貿易甚鉅的重要生物因子。

相關法源與規範

我國為世界貿易組織 (World trade organization · WTO) 的會員國，貿易遵循該組織的「食品安全檢驗與動植物防疫檢疫措施協定」(Agreement on the application of sanitary and phytosanitary measures, SPS 協定)，故對於輸入農產品採行之檢疫與檢驗措施必須有客觀依據，不得依主觀認定來採行武斷或恣意的貿易限制措施。SPS 協定中，明訂會員應以國際植物保護公約 (International plant protection convention, IPPC) 組織所訂定之國際植物防疫檢疫措施標準 (International standard of phytopathology measures · ISPMs) 為基礎來制定其植物防疫檢疫措施。截至 2021 年底止，在植物防疫檢疫訂有 45 種 ISPM (惟 ISPM 30 已於 2018 年撤銷，併入 ISPM 35)。其中，ISPM 第 15 號標準說明減少國際貿易中木質包裝材料移動所帶來的檢疫有害生物傳入和傳播風險的植物檢疫措施，包括使用去樹皮木材和採取檢疫處理措施，並訂定處理標識。ISPM 第 27 號標準則描述管制有害生物診斷方法，提供與國際貿易相關之管制有害生物的官方診斷鑑定程序和方法。陸續於 2015、2016、2017 年，IPPC 所公告增加的 ISPM 27 附件 8、9、10、11、17、18，分別提供對於重要植物線蟲的詳細指引：*Anguinasp.* (附件 18)、*Aphelenchoides besseyi* (附件 17)、*Aphelenchoides fragariae* (附件 17)、*Aphelenchoides*

ritzemabosi(附件 17) 、*Bursaphelenchus xylophilus*(附件 10) 、*Ditylenchus dipsaci*(附件 8) 、*Ditylenchus destructor*(附件 8)、*Xiphinema Americanum sensu lato* (附件 9)。

基於 WTO-SPS 協定，我國於 85 年 1 月 10 日由總統公布施行「植物防疫檢疫法」，行政院農業委員會（簡稱農委會）於 85 年 11 月 30 日發布公告「中華民國臺灣地區應實施防疫之特定疫病蟲害種類」，86 年 9 月 17 日發布「植物防疫檢疫法施行細則」，86 年 12 月 10 日發布「植物防疫及檢疫執行辦法」。依植物防疫檢疫法第十條第一項之規定，農委會於 87 年 6 月 29 日發布「疫區植物或植物產品土壤及其包裝容器栽培介質遷移核准辦法」，明定主管機關得劃定疫病蟲害疫區，限制或禁止植物、植物產品、土壤及其包裝、容器、栽培介質之遷移，以防止特定疫病蟲害之蔓延。依植物防疫檢疫法十四條第一項之規定，農委會於 87 年 7 月 31 日公告禁止輸入或轉運國內之特定植物或植物產品，並依第十六條第二項規定，公告植物或植物產品輸入檢疫條件。於 88 年 4 月 22 日公告「中華民國輸入植物或植物產品檢疫規定」，後依該法規定和實務需要，陸續增修訂各別疫病蟲害檢疫條件。103 年 6 月 18 日修正植物防疫檢疫法第十四條及第十六條，檢疫措施法源配合修正，故現禁止輸入和檢疫條件法源分別為該法第十四條第一項第一款和第二款。此外，因應 ISPM 第 15 號之規範，

農委會於 97 年 6 月 2 日公告訂定「輸入貨品使用之木質包裝材料檢疫條件」，規定處理方式和章戳。防檢局亦於 97 年 8 月 14 日訂定「輸入貨品使用之木質包裝材料檢疫作業要點」，規定執行檢疫時的作業規範。於 97 年 10 月 9 日，「中華民國臺灣地區應實施防疫之特定疫病蟲害種類」法令名稱修正為「中華民國應施防疫之特定疫病蟲害種類」，於 106 年 5 月 23 日再度修正為「中華民國植物特定疫病蟲害種類及範圍」，相關內容亦從列出指定國外發生而國內未有的病蟲害，調整為公告為國內已發生的病蟲害，並就其危害作物與地區增列範圍，以落實中央及地方主管機關就特定疫病蟲害監測或調查及後續防治等事項分工。

現行 110 年 11 月 8 日所修訂之中華民國輸入植物或植物產品檢疫規定中，稻莖線蟲 (*D. angustus*)、穿孔線蟲 (*Radopholus similis*; syn. *R. citrophilus*)、黃金線蟲 (*Globodera rostochiensis*) 為禁止輸入部分植物或植物產品之原因，而莖線蟲 (*D. dipsaci*)、馬鈴薯腐敗線蟲 (*D. destructor*) 之相關寄主植物或植物產品，則須依照「有條件輸入植物或植物產品」相關檢疫條件辦理。此外，我國管制有害生物清單列有 54 種線蟲。依據植物防疫及檢疫執行辦法，輸入之植物或植物產品經檢疫結果證明有該列有害生物存在時，應經適當之檢疫處理，確定該有害生物完全滅除後，始得輸入。無適當之檢疫處理方式可滅除該有害生物時，即予退運或銷

燬，且防檢局得對有害生物之上一分類群 (Taxa) 有害生物採取檢疫處理措施。

重要植物線蟲

1、穿孔線蟲 (*Radopholus similis*; syn. *R. citrophilus*)

穿孔線蟲廣泛分布於熱帶、亞熱帶地區 (EPPO 2022)，為內寄生潛移性線蟲，其幼蟲所有齡期與雌蟲都具有侵染寄主的能力。其具強而有力的口針，可穿刺侵入寄主根部細胞，佔據皮層薄壁組織細胞間隙位置，以口針吸取鄰近細胞之細胞質，最後破壞該細胞並造成空洞化。線蟲持續移動、取食細胞組織，導致空洞持續擴大，導致寄主呈現典型紅褐色病癥 (Valette *et al.* 1998)。植株受到其侵染後根部虛弱，故易導致植物倒塌或連根拔起等病徵。穿孔線蟲寄主廣泛，可侵染超過 350 種植物，包含香蕉、柑橘、胡椒、火鶴花、甘蔗等重要經濟作物，導致香蕉倒伏病 (banana toppling-over disease)、胡椒黃化病 (pepper yellows disease) 與柑橘猝死症 (spreading decline of citrus) 等。於嚴重感染區域，穿孔線蟲可導致香蕉倒伏、高達 80% 的柑橘減產以及胡椒植株死亡。穿孔線蟲約 20–25 天可完成一次生活史，行兩性交配，雌蟲可連續數週每天產卵 4–5 顆，於土壤中可存活長達 6 個月。地處於亞熱帶、熱帶交界的臺灣，具有適合穿孔線蟲繁殖的氣候，且大面積栽培其寄主植物。過往有不慎

入侵導致啟動緊急撲滅程序之事件，若穿孔線蟲線蟲族群不慎立足，恐造成我國農業嚴重經濟損失。

2、馬鈴薯包囊線蟲 (黃金線蟲, *Globodera rostochiensis*)

馬鈴薯黃金線蟲廣泛的分布於種植馬鈴薯的溫帶氣候地區與少數熱帶國家的高緯度區域，為內寄生固著型線蟲。線蟲於二齡幼蟲時期由根尖側面進入植物，後穿越數層細胞抵達維管束形成層的位置，透過口針將其食道腺所分泌的酵素等物質注入目標細胞，形成特化的合胞體 (syncytium) 為取食位點，並於內取食發育至成蟲。馬鈴薯包囊線蟲主要寄生於茄科，寄主包含馬鈴薯、番茄、茄子等 90 種植物。該線蟲會導致受侵染的作物生長不良，地上部出現葉片萎黃、植株矮小，同時使根系發育不良，塊莖或果實變小、產量下降。受感染的植株亦會增加對於病原性真菌 *Verticillium* spp. 的感病性。幼蟲侵染寄主後約 38–45 天可生長成為成蟲，約 50 天完成交配，一隻雌蟲可產卵 500 顆 (Grainger 1964; Spears, 1968; Evans 1970)。雌蟲於死亡後能將蟲體轉變為革質化的包囊 (cyst)，以保護子宮內未孵化的卵，能休眠於內度過不良的外在環境，長達 28 年 (Grainger 1964)。台灣無此線蟲的發生紀錄。

3、莖線蟲屬 (*Ditylenchus angustus*, *D. dipsaci*, *D. destructor*, *D. myceliophagus*)

莖線蟲屬內有 81 種線蟲，多數種類為取食真菌的腐生性線蟲。然而，有三種能寄生重要糧食與經濟作物，於國際間被視為重要植物檢疫線蟲：稻莖線蟲 (*D. angustus*)、馬鈴薯腐敗線蟲 (*D. destructor*)、與莖線蟲 (*D. dipsaci*)。此外，*D. myceliophagus* 為蕈菇類產業的重要病原害蟲。這些具有植物寄生能力的種類，多以潛移型內寄生的方式寄生於植株地上部或地下部的組織，包含根、匍匐根、塊莖、走莖等；僅 *D. angustus* 以外寄生的方式取食。該屬線蟲於植物組織內行兩性交配，並產卵於植株內；每隻雌蟲可產 200–500 個卵 (Goodey 1922)。依寄主與環境之差異，其生活史可能介於 17–39 天 (Yuksel 1960; Stoyanov 1964; Zakrzewski 1977)。出卵後的每個齡期皆能侵害寄主，然而四齡幼蟲具有耐乾旱且進入休眠的能力；於土壤中，可休眠可長達 10 年 (Hooper 1984)。線蟲的交配、的取食寄主薄壁組織，導致細胞壁的中間層破裂，受感染的植物地上部常見植株矮化、異常腫脹、節間縮短、變形、壞疽、莖基部腐爛或壞死等病徵，甚至死亡 (Netscher & Sikora 1990; Sikora & Greco 1990)。

D. dipsaci 為造成嚴重作物危害的線蟲物種之一，寄主包含甜菜、洋蔥、燕麥、裸麥、玉米、草莓、萵苣、紅苜蓿、花卉球莖、四季豆、蒜等超過 500 種的植物。嚴重感染時通常導致 60–80% 的減產。該線蟲的經濟閾值相當低，每 500 克土壤中僅需 10 隻即能造

成嚴重危害。此外，該屬線蟲為病原細菌 *Corynebacterium insidiosum* 之傳播媒介，且能破壞原有植物對該病原之抗性 (Hawn 1963; Hawn & Hanna 1967)。該線蟲較喜低溫環境，於 1–25 °C 間生長與繁殖，出卵後皆能危害寄主，唯其四齡幼蟲具有抵抗乾旱且進入休眠特性，故易隨低溫冷藏的貿易貨品移動而危害輸入國之農作物。*D. destructor* 主要危害馬鈴薯、甘藷和花卉球莖等 120 種寄主，能取食超過 40 屬、70 種的真菌，且可在 5–34 °C 間生長與繁殖，是國際間相當重視且受到高度監控的檢疫線蟲。寄主初期被感染時可見小白點，後漸深轉灰或成深棕或黑色，且組織呈現海綿狀質感。於嚴重感染的塊莖組織可見些微凹陷、龜裂且薄如紙的表面，且易發生真菌、細菌、蟎、其他線蟲等其他病原或害蟲的二次感染。受到感染的塊莖，於儲藏時易出現皺縮與乾或濕的腐敗病徵。地上部組織被感染時，常見矮化、莖部分支變粗，葉褪色、捲曲、發育不良等病徵。*D. angustus* 分佈於亞洲和非洲的水稻種植區域，最適生存於 20–30 °C 之間。其以外寄生的方式危害 *Oryza* 科的幼嫩植物組織，水稻為其主要寄主，是「水稻烏夫拉病 (Ufra disease of rice)」的病原。該病害平均導致 30% 的損失，於泰國造成 20–90 % 的減產，於印度則造成高達 50% 的減產 (Hollis & Keonboonrueng 1984)。於環境潮濕時，線蟲可自土壤沿著莖部移動到生長點，後以葉鞘內、稻穗、花序等部位發育中的組織為

食。於環境乾旱或植株成種子熟時，蟲體捲曲進入休眠，至多可於乾旱狀態中靜待 15 個月。於被感染初期，水稻幼苗的最上位葉可見褪色或白線，後轉淺綠色，且中肋黃化、偶爾加粗。葉片扭曲、變形，且經常具有波浪狀邊緣。重度感染時，稻穗包覆於葉鞘、受影響的莖部分支 (swollen ufra)，或是花序呈現深棕色、除尖端之外稻穗不稔 (ripe ufra)。嚴重感染時，植株呈現生長延遲、嚴重矮化、葉片萎凋，甚至死亡 (Singh & Garg 1949; Singh 1953; Prasad *et al.* 1987)。水稻為臺灣重要的糧食作物，故需防範該線蟲入侵臺灣。

4、葉芽線蟲屬 (*Aphelenchoides besseyi*、*A. fragariae*、*A. ritzemabosi*)

葉芽線蟲屬內計有 197 種線蟲，多數種類為取食真菌的腐生性線蟲，少數葉芽線蟲具有植物寄生性，可以內寄生或外寄生的方式取食，造成水稻白尖病、草莓縮葉病、菊花葉枯病等重要作物病害。於防檢疫具有重要性的種類包含，水稻葉芽線蟲 (*A. besseyi*)、草莓葉芽線蟲 (*A. fragariae*)、菊花葉芽線蟲 (*A. ritzemabosi*)，以及為蕈菇類產業的重要病原害蟲 *A. composticola*。該屬線蟲寄生植物內部時，取食葉脈間葉肉組織，受侵染部位呈現水浸狀或油狀斑點，後轉為黑褐色壞疽，終呈現乾枯、薄質而崩落。當其於外部取食，則經常躲藏於寄主葉鞘、花苞等部位，導致葉片呈現杯狀或不規則形變，下位葉可見壞疽

塌陷角狀斑點，花器畸形縮小，嚴重者葉片乾枯下垂，植株生長停滯、扭曲、矮化等病徵。該屬線蟲喜好水分充足且溫暖的環境，具有良好的脫水殘存能力，使蟲體能以休眠的方式度過沒有寄主或乾燥的時期。大部分的葉芽線蟲種類透過兩性交配生殖，少數種類可孤雌生殖。該屬線蟲主要透過植物繁殖體傳播，少數則隨土壤與栽培介質。*A. besseyi* 普遍分布於我國，寄主包含我國重要出口作物山蘇，以及常見花卉、觀賞作物十數種。水稻白尖病對稻作的減損率為 10 至 30%，高感受性品種甚至達 47% (洪 1959; 陳 1961)。苗栗地區的草莓園，偶爾可見 *A. fragariae* 造成葉片皺縮、產量下降，甚至導致植株萎凋。

5、松材線蟲 (*Bursaphelenchus xylophilus*)

松材線蟲侵害松科植物地上部，是松樹萎凋病 (pine wilt disease) 的病原。其主要倚賴松斑天牛 (*Monochamus alternatus*)、長角卡羅納天牛 (*M. caroliensis*) 等天牛科昆蟲進行傳播，以兩性交配的方式繁殖，生活史短。松材線蟲於三齡幼蟲時期隨媒介昆蟲傳播，於寄主內蛻皮為四齡幼蟲，迅速進入松脂管中取食 (Stamps & Linit 1998)。被感染的松樹分泌過多過氧化脂質至周圍的木質部，造成堵塞，進而使枝條枯萎。夏季受松材線蟲嚴重感染的植株，於數十天內即可死亡。該線蟲可透過受感染的木材或木製品傳入其他國家 (Nickle *et al.* 1981)，入侵立足後之不易

移除，且會導致相當高的經濟損失，因此諸多國家將其列為重要檢疫線蟲。我國北部地區有松材線蟲之分佈。

6、根瘤線蟲屬 (*Meloidogyne* spp.)

根瘤線蟲屬為行孤雌生殖的內寄生固著型線蟲。其寄主作物超過 3000 種，包含茄科、十字花科、葫蘆科、豆科、禾本科等重要經濟作物，且廣泛分佈於全世界，每年造成全球農業損失超過數十億美元 (Elling 2013)。受根瘤線蟲侵染之根系，會出現明顯結瘤、腫大，影響養分和水分吸收，使植物發育不良，產生矮化、葉片褪綠黃化，甚至萎凋 (Perry 2009)。根瘤線蟲自卵孵化之二齡幼蟲侵入植物後，會移動至維管束內適當位置後固著，藉由分泌致病因子刺激周圍寄主植物組織的不正常分化，形成巨大細胞 (giant cell)，作為線蟲獲取養分來源的取食點 (Castagnone-Sereno *et al.* 2013)。該屬內有 61 種線蟲，南方根瘤線蟲 (*M. incognita*)、北方根瘤線蟲 (*M. hapla*)、爪哇根瘤線蟲 (*M. javanica*)、花生根瘤線蟲 (*M. arenaria*) 等為全球廣泛分佈的種類。近年，喜高溫環境的象耳豆根瘤線蟲 (*M. enterolobii*) 與衣索比亞根瘤線蟲 (*M. ethiopica*) 等種類亦受到國際間重視。象耳豆根瘤線蟲已入侵我國，其能克服帶有 Mi 基因的抗病番茄植株並造成危害，並於溫室試驗中造成小白菜、洋香瓜等重要經濟作物品質大幅降低與減產，甚至

在 35 °C 的高溫環境條件中加速繁殖。我國尚未有紀錄但在南美洲及非洲廣泛存在的衣索比亞根瘤線蟲，寄主範圍相當廣泛，能寄生超過 80 種植物，包含奇異果、甜菜、高麗菜、辣椒、西瓜、大豆、番茄、馬鈴薯、葡萄、以及樹木和雜草等 (Carneiro *et al.* 2003, 2007; Sirca *et al.* 2004)。

7、根腐線蟲屬 (*Pratylenchus* spp.)

根腐線蟲屬共 70 種線蟲，為內寄生遷移性線蟲，以植物的根部皮層細胞為食 (Davis & MacGuidwin 2000)。三分之二的根腐線蟲種類為孤雌生殖，每隻雌蟲產卵至多 35 顆，依環境溫度條件大約 3–8 週可完成一次生活史 (Turner & Chapman 1972; Towson & Lear 1982; Pablo & Nicola 2007)。該屬線蟲廣泛分布於全球，普遍危害咖啡、豆科、草莓、花生等蔬菜水果類高經濟價值作物，也有嚴重危害香蕉、玉米、小麥、大豆、馬鈴薯等糧食作物的報導。*P. thornei* 於美國曾導致 70 % 小麥減產 (Smiley 2009)，於澳大利亞東部亦曾導致 380 億美元的損失 (Whish *et al.* 2014)。於我國紀錄有 6 種根腐線蟲，玉米、茶、山藥及草莓等皆為其嗜好寄主 (曾等 2019)。受到根腐線蟲危害的植株，根部皮層與鄰近細胞受到破壞導致根部紅棕色的壞疽，地上部則呈現萎凋、葉片黃化、枝葉稀疏等生長不良病徵。壞疽部位易有真菌、細菌等其他病原的二次感

染 (Nyczepir & Becker 1998)。該屬線蟲具有 50% 的冬季休眠比例，使其能存活於土壤中 (Kimpinski & Dunn 1985)。

植物線蟲偵測鑑識技術

多數植物線蟲個體為短於 2 mm 的梭狀、不具外骨骼、身體透明、器官清晰可見，故基礎的物種鑑識得以型態特徵為主要依據。鑑定時，運用光學（解剖、複式）或掃描式電子顯微鏡，毋需染色即可觀察蟲體各器官位置、形狀特徵，並進行顯微量測取得重要特徵之數據，如體長、體寬、食道腺長、雌蟲陰門及雄蟲交接刺於身體之相對位置、口針長度等特徵數據。後續檢索曾被報導之線蟲物種於文獻與資料庫（如 NEMAPLAX），檢視其特徵描述、對照相關圖片、照片，並參考第曼公式 (de Manian formula) 所列之各項指標 (de Man 1876, 1880)，以及特定物種之檢索表。最終，經過綜合判斷，得以完成線蟲物種鑑定。若是要檢查躲藏於植株內部的線蟲，或是欲針對部分線蟲種類於特定齡期所具有的非梭狀型態進行觀察，則可運用簡單的染色步驟，以特定染劑進行蟲體染色予以輔助。此外，運用生物化學方法偵測蛋白質酵素表現的技術，在植物線蟲鑑定方面的應用亦已久 (Esbenshade & Triantaphyllou 1985)。搭配雙向凝膠電泳 (two-dimensional gel electrophoresis)，脂酶是常被使用於根瘤線蟲屬內物種鑑識的酵素標記 (Esbenshade & Triantaphyllou 1990)。近年，學者亦利用

基質輔助雷射脫附游離法 (matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI)，以激發光能量吸收氣態離子，搭配質譜儀器分析線蟲蛋白質圖譜，透過光譜的差異區分不同線蟲 (Perera *et al.* 2005) 或幼蟲、成蟲的判斷 (Ahamad *et al.* 2012)。

分子生物學研究的快速發展，使學者得以開發以核糖體基因或粒線體基因核苷酸序列做為標記的鑑定方法 (Toumi *et al.* 2013; Avó *et al.* 2017)。現今，利用特定分子標記序列的特殊性，搭配專一性的 PCR 引子、限制酶、膠體電泳，使以核酸和聚合酶鏈鎖反應為基礎的偵測鑑定技術蓬勃發展。國際上已有針對根瘤線蟲、莖線蟲、根腐線蟲及松材線蟲等廣泛利用的多重聚合酶鏈鎖反應偵測技術 (multiplex PCR) (Zhuo *et al.* 2010; Hu *et al.* 2011; Jeszke *et al.* 2015; Dauphinais *et al.* 2018)。此外，快速、準確性及靈敏度皆高且成本相對低的恆溫圈環形核酸增幅法 (loop-mediated isothermal amplification, LAMP)，也於近年逐漸受到重視。該技術透過多組專一性引子同步增幅樣本內所帶之特定核酸，可搭配 hydroxy naphthol blue 染劑或偵測試紙的使用，於偵測反應的終端快速顯示偵測結果 (Ahuja & Somvanshi 2021)。目前，該技術已可用於偵測松材線蟲、根瘤線蟲、穿孔線蟲及小麥癭腫線蟲等多種植物線蟲 (Bogale *et al.* 2020)。本研究團隊所開發的技術，甚至可自尚未產生病徵之人工接種水稻苗中成功偵測水稻葉芽線蟲 (李

等 2019)。除此之外，針對遺傳指紋所進行的分析技術亦應用於線蟲鑑識，如限制性片段長度多態性 (restriction fragment length polymorphism · RFLP)、增殖片段長度多型性 (amplified fragment length polymorphism · AFLP)、隨機擴增多態性去氧核糖核酸 (random amplification of polymorphic DNA · RAPD) 等。相關技術主要利用限制性內切酶切割複雜或重複的核酸，搭配 PCR 技術，分析不同個體所產生的片段差異，以區分物種。目前已有可應用於莖線蟲、包囊線蟲、根瘤線蟲等屬的相關技術 (Toumi *et al.* 2013; Amarante *et al.* 2014; Mahmoudi *et al.* 2020)。此外，利用微電子、微機械等工業技術，在微小面積的基質上種植高密度的生物探針的微陣列晶片 (microarray · biochip)，是反應快速，分析靈敏度及專一性高的大量篩檢的工具。近年，本團隊與中興大學團隊的跨校合作研究，已證實生物晶片亦可以使用於線蟲鑑定，成功開發可用於鑑定穿孔線蟲、松材線蟲、椰子紅輪線蟲、馬鈴薯腐敗線蟲、菊花根腐線蟲等十數種檢疫有害線蟲的生物晶片。此技術若未來應用於邊境檢疫，將大幅縮短檢驗時間、加速相關作業流程。

我國現況與挑戰

身為 WTO 會員，於國際貿易盛行之當代，我國自國外輸入之農產品種類與數量日益擴增，有害生物隨輸入農產品而入侵之風

險亦不斷增加。為強化有害生物之偵測鑑定工作，防檢局於民國 89 年成立「進口植物有害生物偵測鑑定計畫」，後續透過「邊境查驗檢出檢疫有害生物之整合鑑定及分析系統」計畫，整合及借重學術及試驗研究機關之專業人力及技術設備，配合防檢局各分局所執行之輸入植物檢疫，協助進行邊境截獲之有害生物診斷鑑定。防檢局轄區分局或檢疫站針對輸入植物或其產品進行抽樣，以高風險性有害生物之寄主植物及繁殖材料 (如種子、苗木、接穗、球莖等) 及栽培介質為抽樣檢測之重點對象。如無法鑑定或需精密技術及設備始能檢測或鑑定時，將樣品後送請學術試驗研究單位專家協助。

針對具有檢疫重要性的植物線蟲，目前我國鑑主要採用型態鑑定與分子技術鑑定併行的鑑定方式。型態鑑定的作業程序包含首先將線蟲自採取的植物或植物產品樣本中分離，利用顯微鏡觀察線蟲特徵，拍照並進行顯微量測，再比對文獻資料。由於線蟲種類繁多且體型小，特徵微小需要透過顯微鏡觀察與量測，型態鑑定流程雖不繁瑣卻相當耗時，且高度倚賴參考文獻、檢索表之齊備性，以及扎實的經驗累積。型態鑑定亦受限於所分離得之線蟲齡期與性別需要成蟲才能具備所有鑑定特徵。採取分子生物技術進行鑑定時，則需進一步運用化學試劑萃取線蟲核酸，進行聚合酶鏈鎖反應偵測，或延伸進行克隆、轉殖，已完成定序分析等。分子鑑定步驟較多且細瑣複雜，執行人員須具備

充足的分子生物學與線蟲學知識，以便順利進行電泳膠圖判讀或完成正確的序列分析。

相對於其他微生物，全球植物線蟲相關研究學者的人數少，植物線蟲的生物學、系統發生學與分子生物學等資料，於國際間的公開資料庫中皆屬相當匱乏。許多歷史悠久的物種缺乏分子生物學資料，而亦有許多新被發現的物種尚未有完整的寄主範圍、地理分佈、生活史等資訊。我國對於植物線蟲分類鑑定人才培育的長久不慎重視，更導致現今具有相關技術與經驗的人才短缺，得以投入檢疫鑑識相關工作之人力遠低於基本需求。此外，第一線鑑識單位往往欠缺高解析度高倍率的顯微鏡、溫度精準的核酸增幅反應儀、電泳槽、低溫冷凍櫃等基本硬體設備，平時亦無儲備鑑定所需之試劑，導致多數樣本需經過長時間儲藏後再運送至學術單位完成鑑定。學術單位人力的不穩定性，增添鑑定時效的不確定性。此外，時常遭遇樣本數量不足、保存過久、狀態不佳，而造成特徵比對困難、鑑定更加耗時的狀況，甚至影響最終鑑定的準確性。受限於資訊、資源、人力的局限性，欲於短時間內準確完成植物線蟲鑑定並釐清其檢疫重要性，實屬不易。

未來，我國須儘速進行大量專業人才的培育以補足人力缺口，提升各單位儀器設備數量，並積極進行植物線蟲鑑識新技術之開發與應用。近年，機器學習技術與影像辨識分析技術的快速進展，也為線蟲鑑定提供新的選擇。透過人工智能辨識系統，短時間內可處

理大量樣品中的物種辨識。無論是辨識複雜背景下的線蟲卵，亦或是混合樣品中多種不同線蟲的辨識，皆有成功報導的案例 (Akintayo *et al.* 2018)。欲開發優良的人工智能辨識系統，則首先須由線蟲鑑識專家拍攝、蒐集大量不同物種的各部位影像，獨立盡行物種註釋，再將圖像結合恰當的演算法建構模型，並經過影像資料反覆訓練模型，提升其鑑識準確度。我國於人工智能辨識系統領域人才濟濟，倘若有充足資源並與植物線蟲學者專家通力合作，應可順利開發符合我國檢疫需求之高效能植物線蟲鑑識系統。

參考文獻

- 洪元平。1959。臺灣稻葉白尖病。植保會刊 1(4): 104–109。
- 李婉均、余冠毅、陳思聿、梁瑀婕、鍾嘉綾、楊爵因。2019。恆溫圈環形核酸增幅偵測技術於水稻徒長病篩檢之適用性探討。植物醫學期刊 61: 11–19。
- 陳脈紀。1961。水稻線蟲心枯病之研究。中興大學農林學報 9, 10: 103–116。
- 曾顯雄、曾國欽、張清安、蔡東纂、嚴新富。2019。台灣植物病害名彙 5: 47, 51, 54, 56, 82, 180, 181 211, 233。中華民國植物病理學會。
- Abad, P., J. Gouzy, J. M. Aury, P. Castagnone-Sereno, E. G. Danchin, E. Deleury, L. Perfus-Barbeoch, V.

- Anthouard, F. Artiguenave, V.C. Blok, M. Cailaud, P. M. Coutinho, C. Dasilva, F. D. Luca, F. Deau, M. Esquibet, T. Flutre, J. V. Goldstone, N. Hamamouch, T. Hewezi, O. Jaillon, C. Jubin, P. Leonetti, M. Magliano, T. R. Maier, G. V. Markov, P. McVeigh, G. Pesole, J. Poulain, M. Robinson-Rechavi, E. Sallet, B. Ségurens, D. Steinbach, T. Tytgat, E. Ugarte, C. Ghelder, P. Veronico, T. J. Baum, M. Blaxter, T. Bleve-Zacheo, E. L. Davis, J. J. Ewbank, B. Favery, E. Grenier, B. Henrissat, J. T. Jones, V. Laudet, A. G. Maule, H. Quesneville, M. Rosso, T. Schiex, G. Smart, J. Weissenbach and P. Wincker. 2008. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. Nat. biotechnol., 26(8), 909–915.
- Ahmad F., J. Gopal and H.F. Wu. 2012. Rapid and highly sensitive detection of single nematode via direct MALDI Mass Spectrometry. Talanta 93:182–185.
- Ahuja, A. and V. S. Somvanshi. 2021. Diagnosis of plant-parasitic nematodes using loop-mediated isothermal amplification (LAMP): A review. Crop Prot. 147:105459.
- Akintayo A., G. L. Tylka, A. K. Singh, B. Ganapathysubramanian, A. Singh, and S. Sarkar. 2018. A deep learning framework to discern and count microscopic nematode eggs. Sci. Rep. 8:1–11.
- Amarante M. R. V., C. C. Bassetto, J. H. Neves and A. F. T. Amarante. 2014. Species-specific PCR for the identification of *Cooperia curticei* (Nematoda: Trichostrongylidae) in sheep. J. Helminthol. 88:447–452.
- Avó, A.P., T. J. Daniell, R. Neilson, S. Oliveira, J. Branco and H. Adão. 2017. DNA barcoding and morphological identification of benthic nematodes assemblages of estuarine intertidal sediments: Advances in molecular tools for biodiversity assessment. Front. Mar. Sci. 4:66.
- Bogale, M., A. Baniya and P. DiGennaro. 2020. Nematode Identification Techniques and Recent Advances. Plants (Basel) 9:1260.
- Castagnone-Sereno, P., E. G. Danchin, L. Perfus-Barbeoch and P. Abad. 2013. Diversity and evolution of root-knot nematodes, genus *Meloidogyne*.

- new insights from the genomic era. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51:203–220.
- Carneiro, R. M. D. G, C. B. Gomes, M. R. A. Almeida, A. C. M. M. Gomes, and I. Martins.** 2003. First record of *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968 on kiwi in Brazil and reaction of different plant species. *Nematologia Brasileira* 27(2):151–158.
- Carneiro, R. M., M. R. A. Almeida, E. T. Cofcewicz, J. C. Magunacelaya and E. Aballay.** 2007. *Meloidogyne ethiopica*, a major root – knot nematode parasitising *Vitis vinifera* and other crops in Chile. *Nematology*, 9(5), 633–639.
- Davis, E., and A. MacGuidwin.** 2000. Lesion nematode disease. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094. PHI–I–2000–1030–02.
- Dauphinais, N., M. Vandal, A. Gagnon, Gl Bélair, P. Véronneau and B. Mimee.** 2018. Development and Application of a Multiplex qPCR Method for the Simultaneous Detection and Quantification of *Pratylenchus alleni* and *P. penetrans* in Quebec, Canada. *Plant Dis.* 102 970–976.
- Elling, A. A.** 2013. Major emerging problems with minor meloidogyne species. *Phytopathology* 103: 1092–1102.
- EPPO,** 2022. EPPO Global database. In: EPPO Global database, Paris, France: EPPO.
- Esbenshade P.R. and A. C. Triantaphyllou.** 1985. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. *J. Nematol.* 17:6–20.
- Esbenshade P.R. and A. C. Triantaphyllou.** 1990. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *J. Nematol.* 22:10–15.
- Evans, K.** 1970. Longevity of males and fertilization of *Heterodera rostochiensis*. *Nematologica* 16:369–374.
- Goodey, T.** 1922. On the susceptibility of clover and some other legumes to stem-disease caused by the eelworm, *Tylenchus dipsaci*, syn. *devastatrix* Kühn. *J. Agric. Sci.* 12:20–30.
- Granger, J.** 1964. Factors affecting control of the eelworm diseases. *Nematologica* 10: 5–24.
- Hawn, E. J.** 1963. Transmission of bacterial wilt of alfalfa by *Ditylenchus*

- dipsaci* (Kihn). *Nematologica* 9: 65–68.
- Hawn, E. J. and M. R. Hanna. 1967. Influence of stem nematode infestation on bacterial wilt reaction and forage yield of alfalfa varieties. *Can. J. Plant Sci.* 47: 203–208.
- Hollis, J. P. and S. Keoboonrueng. 1984. Nematode parasites of rice. *in*: Plant and Insect Nematodes (Nickle, W. R. ed.) Marcel Dekker, New York, pp. 95–146.
- Hu, M. X., K. Zhuo and J. L. Liao. 2011. Multiplex PCR for the simultaneous identification and detection of *Meloidogyne incognita*, *M. enterolobii*, and *M. javanica* using DNA extracted directly from individual galls. *Phytopathology* 101: 1270–1277.
- Jeske, A., R. Dobosz and Obrepalska–Stepłowska. 2015. A fast and sensitive method for the simultaneous identification of three important nematode species of the genus *Ditylenchus*. *Pest Manag. Sci.* 71: 243–249.
- Kimpinski, J. and R. Dunn. 1985. Effect of low temperatures in the field and laboratory on survival of *Pratylenchus penetrans*. *Plant Dis.* 69: 526–527.
- Perry, R. N., M. Moens and J. L. Starr. 2009. Root – knot nematode. CAB International Publishers, Wallingford, UK, pp. 164–167.
- Mahmoudi, N., E. N. Pakina, L. A. Limantceva and A. V. Ivanov. 2020. Diagnosis of potato rot nematode *Ditylenchus destructor* using PCR–RFLP. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries* 15:353–362.
- de Man, J. G. 1876. Onderzoekingen over vrij in de aarde levende nematoden. *Tijdschr. Ned. Dierk. Ver.* 2: 78–196.
- de Man, J. G. 1880. Die Eingheimischen, frei in der reinen erde und im süßen wasser lebends Nematoden. *Tijdschr. Ned. Dierk. Ver.* 5: 1–104.
- Netscher C and A. Sikora. 1990. Nematode parasites of vegetables. *in*: Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture (Luc M., R.A. Sikora, and J. Bridge ed.). CAB International Publishers, Wallingford, UK, pp. 237–283.
- Nyczepir, A. P. and J. O. Becker. 1998. Fruit and citrus trees. *Plant and Nematode Interactions* 36:637–684.
- Pablo, C. and V. Nicola. 2007.

- Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. Brill, Leiden, The Netherlands.
- Perera M. R., V. A. Vanstone, M. G. K. Jones. 2005.** A novel approach to identify plant parasitic nematodes using matrix – assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19:1454–1460.
- Prasad, J. S., M. S. Panwar and Y. S. Rao. 1987.** Nematode problems of rice in India. *Tropical Pest Management* 33:127–136
- Sikora R.A. and N. Greco. 1990.** In: M. Luc, R.A. Sikora & J. Bridge (Eds.), *Plant–parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. CAB International Publishers, Wallingford, UK, pp. 181–235.
- Širca, S., G. Urek and G. Karssen. 2004.** First report of the root – knot nematode *Meloidogyne ethiopica* on tomato in Slovenia. *Plant Dis.* 88:680.
- Singh B. 1953.** Some important diseases of paddy. *Agriculture and Animal Husbandry, Uttar Pradesh*, 3:27–30.
- Singh, U.B. and D. N. Garg. 1949.** New and unknown diseases of rice in the United Provinces. *Plant Protection Bulletin* 1:1
- Smiley, R. W. 2009.** Root – lesion nematodes reduce yield of intolerant wheat and barley. *Agronomy Journal* 101:1322–1335.
- Spears, J. F. 1968.** The golden nematode handbook, survey, laboratory, control and quarantine procedures. U.S. Dept. Agr. Handbook, 353.
- Stoyanov, D. 1964.** Bioekologicheski prouchvanija na st'blenata nematoda po luka – *Ditylenchus* all (Beijerinck). *Gradinarska i Lozarska Nauka* 1: 63–71.
- Toumi, F., L. Waeyenberge, N. Viaene, A. Dababat, J. M. Nicol, F. Ogbonnaya and M. Moens. 2013.** Development of two species–specific primer sets to detect the cereal cyst nematodes *Heterodera avenae* and *Heterodera filipjevi*. *Eur. J. Plant Pathol.* 136:613–624.
- Towson, A. J. and B. Lear. 1982.** Effect of Temperature on Reproduction and Motility of *Pratylenchus vulnus*. *J. Nematol.* 14:602–603.
- Turner, D. R. and R. A. Chapman. 1972.** Infection of Seedlings of Alfalfa and

- Red Clover by Concomitant Populations of *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus penetrans*. J. Nematol. 4:280–286.
- Valette, C., D. Mounport, M. Nicole, J. L. Sarah and P. Baujard. 1998.** Scanning electron microscope study of two African populations of *Radopholus similis* (Nematoda: Pratylenchidae) and proposal of *R. citrophilus* as a junior synonym of *R. similis*. Fundamental and Applied Nematology 21:139–146; 16.
- Whish, J., J. Thompson, T. Clewett, J. Lawrence and J. Wood. 2014.** *Pratylenchus thornei* populations reduce water uptake in intolerant wheat cultivars. Field Crops Res. 161:1–10.
- Yuksel, H. S. 1960.** Observations on the life cycle of *Ditylenchus dipsaci* on onion seedlings. Nematologica 5: 289–296.
- Zakrzewski, J. 1977.** Studies on the occurrence, biology and pathogenicity of stem nematode (*Ditylenchus dipsaci* Kühn) on red clover in Poland. 1. Biology of stem nematode. Hodowla Rosin Aklimatyzacja i Nasiennictwo 21: 313–320.
- Zhuo, K., M. Luo, R. Cui, and J. L. Liao. 2010.** A multiplex one – step PCR method for the simultaneous identification of *Bursaphelenchus xylophilus*, *B. mucronatus* and *B. doui* three species within the xylophilus group. For. Pathol. 41:66–69.

The Present Situation and Challenges for Diagnostics and Detection of Plant Nematodes with Quarantine Importance in Taiwan

Meng-shan Hsieh¹ and Jiue-in Yang^{1,*}

¹Department of Plant Pathology and Microbiology, National Taiwan University, Taipei city, Taiwan

Abstract

Plant-parasitic nematodes are a large group of animals with diverse morphology, biological characteristics, and ecological niches. They are microscopic, highly reproductive, strongly adaptative to environments, could easily be transported by agricultural trades, and are almost impossible to eradicate once they enter and establish in an area. They cause serious yield losses in global agricultural crops and forests and change the landscape drastically, thus being considered a very important biological factor in international trades. Being a member of the World Trade Organization, Taiwan imports many agricultural commodities at huge quantities. Thus, the risk of accidentally importing pests is also high. In the current regulations for Taiwan's plant and plant product importation, *Ditylenchus angustus*, *Radopholus similis* and *Globodera rostochiensis* are plant nematode species listed as the associated quarantine pest to prohibited entry plant or plant products, while *D. dipsaci* and *D. destructor* are associated to restricted entry plant or plant products. In addition, 54 plant-parasitic nematode species are listed as regulated quarantine pests. At the border, BAPHIQ randomly samples the importing plant or plant products, identifies the intercepted pests within, and conducts proper quarantine measures. In this article, we review the relating regulations, introduce the important nematode species, the diagnostic and identification methods and techniques, and discuss the present situation and

*Corresponding author.

E-mail: jiueinyang@ntu.edu.tw

challenges for the system in Taiwan. Both morphological and molecular identification methods are being applied for quarantine nematode pest diagnostic and identification. However, the insufficient biological information, resources, and lacking professional manpower is limiting both efficiency and efficacy. In the future, Taiwan needs to investigate more resources in training more professionals, upgrading necessary equipment, and fully supporting the development and application of new methods for plant quarantine nematode identification.

Keywords: Plant quarantine, Plant-parasitic nematode, Diagnostic and detection methods

命名及鑑定植物病原真菌

陳羿秀¹ 歐玟晴¹ 陳啟予^{1,*}

中興大學植物病理學系。 台灣 台中

摘要

植物病理學家經常會對真菌學名之複雜性而感到困惑，甚至會覺得真菌之命名及分類方式不易理解。誠然，由於真菌之特殊性質，造就了生物學中獨一無二的雙名制(dual nomenclature)之命名制度，但這個制度雖不符合自然分類的理論，卻實施了上百年。隨著 DNA 序列廣泛的被應用在真菌之分類，早期不得使用雙名制之權宜背景已不復存在，因而自 2013 年 1 月 1 日起，將真菌之命名回歸和其他生物之命名一致，一個生物只有一個學名，在真菌就是“一真菌一學名(one fungus one name)”。對其他生物是理所當然的事，但在真菌卻掙扎的上百年才獲得這樣的命名條件，但這樣的改變卻必須面對、及解決早期雙名制留存下來的命名問題，這會是很複雜，卻是有脈絡可循的，只要能清楚其邏輯脈絡，就可以清楚掌握這樣的轉變，並能正確的使用學名。在此將說明實施雙名制之原因、雙名制之操作方式、一真菌一學名之原理、及實行一真菌一學名對既有學名之影響，循序漸進的說明真菌命名演進的來龍去脈，此觀念之理解，將有助於正確的命名及鑑定植物病原真菌。而對於真菌鑑定已不可或缺之 DNA 條碼，有一些執行上需注意之關鍵，如能正確且有效的運用 DNA 條碼，將能使真菌之鑑定更為便利。

關鍵字：真菌命名、雙名制、一真菌一學名、DNA 條碼

前言

世界上已被發現的真菌種類約 12 萬種，然而有更多種尚未被發掘，推估實際應該存在有 220 萬至 380 萬種真菌(Hawksworth

& Lücking 2017)，面對如此龐大的數目，正確之學名是科學上交流、及實務應用之首要關鍵，學名中可以衍伸物種的分類、形態、生理生化特性、分布範圍等資訊，而對於植物病原真菌更包含了寄主範圍、潛在風險、管理方

*論文聯繫人

法等重要資訊，這在防、檢疫之工作上尤其重要，若使用不正確的名稱可能不慎引入病原菌，錯誤名稱也可能在病害管理上做出錯誤的判斷(Crous *et al* 2021)。真菌的學名有其特有之複雜性，造就了雙名制的特有規範，而如今面對雙名制之廢止，採取新的一真菌一學名之原則，造成了眾多學名之改變，尤其是當植物病理學者面對長久熟悉的植物病原菌學名之更動，經常感到困惑。在此從源頭說明雙名制在歷史上之必然，延伸至現今一真菌一學名之不得不然，希望能對學名的使用有知其所以然的清晰。再者，普遍應用來輔佐鑑定之 DNA 序列，有基本需要注意之關鍵，特別提出來，希望能有助於提高鑑定之精準。

高等真菌(子囊菌、擔子菌)分類所遭遇之難題

自以顯微鏡觀察、並將各種真菌賦予學名起始，對具有子囊、產生子囊孢子之真菌種類給予學名(這是有性繁殖之結構、及孢子)，也對於“直接自菌絲上產生分生孢子(conidium)”之真菌命名(這是無性繁殖之孢子)。起初，只是分別對大自然中之菌種，根據不同的孢子型式進行分類與命名，尚不知道那些以分生孢子命名的種類，其實是歸屬於子囊菌的無性繁殖。逐漸的，許多真菌是根據子囊菌之有性繁殖來命名；而許多真菌的是根據子囊菌之無性繁殖來命名。直到 Tulasne (1851)證明了這些無性繁殖命名的真菌，只是子囊菌生活史之一部分，才開始明

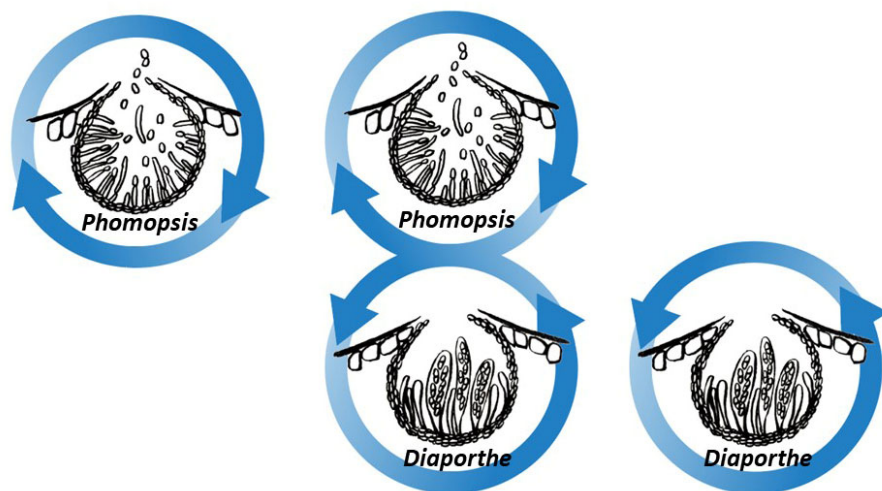
白這兩類以前被視為不同的真菌，是同類群的。此時，直接面對的難題就是：這時子囊菌同時並存著兩套分類的規則、及其所衍伸的學名——一個是根據有性繁殖、一個是根據無性繁殖。而有時候，同一個子囊菌就具有有性、無性兩個學名，如 de Bary (1854)就發現 *Aspergillus glaucus* (L.) Link 和 *Eurotium herbariorum* (Weber ex F.H. Wigg.) Link ex Nees 是相同的真菌，卻分別被根據無性繁殖(前者)、及有性繁殖(後者)命名。並存兩套命名規則的難題，就這樣的一直困擾著真菌學者，但這也是真菌學歷史的必然過程，因為當真菌學家在採集子囊菌時，有超過 90%以上之機會僅發現其有性繁殖、或無性繁殖，因為許許多多種類的只存在有性繁殖、或只存在無性繁殖，在此種狀況下，無法用單一的分類規則(或形態特性)來對所有子囊菌進行分類。隨後也發現擔子菌亦存在有性繁殖、無性繁殖獨自存在之現象，也同樣面臨兩套分類規則的難題，但相對子囊菌而言，擔子菌較少困擾分類學者，因為多數擔子菌僅存在有性繁殖，只有少數存在無性繁殖，也就是說，用有性繁殖的形態特徵，即可以將大多數的擔子菌進行分類與命名。

以子囊菌 *Diaporthe*、*Phomopsis* 為例之生活史

Diaporthe 屬為 1867 年依據有性繁殖形態所建立之屬，是以子囊、及子囊孢子為特徵；*Phomopsis* 為 1905 年依據無性繁殖形

態所建立之屬，是以分生孢子為特徵。自然界中，有些真菌種類同時具有 *Diaporthe*、及 *Phomopsis* 的形態(圖一、中)，但多數種類只存在有性繁殖(sexual reproductive stage 或 sexual morph) *Diaporthe*、或只存在無性繁殖形態(aseexual reproductive stage 或 asexual morph) *Phomopsis*(圖一、左、右)。所以這兩個屬雖然被視為相同，但在命名的難題存在時，將此二屬分別用來命名有性繁殖、及無性繁殖形態，為權宜不得不然的措施。在圖一中，有性繁殖、及無性繁殖的生活史分別以單獨的圓圈表示，圓圈表示“迴旋 cycle”，代表可以在同一個圈中不斷重複，

而不必然要進入到下一個圈，也就是說，可以一直在有性繁殖、或無性繁殖的圓圈中打轉。這和“世代交替(alternation of generation)”是不同的觀念，世代交替的生活史包括有性世代(sexual generation)、及無性世代(aseexual generation)，但此兩個世代是在同一個“圓圈”上，在真菌界中，只有低等真菌壺菌類的芽枝黴菌門(Blastocladiomycota)之 *Allomyces* 及 *Coelomomyces* 屬具有世代交替，合計種類不超過 150 種。而子囊菌 *Diaporthe* 是“有性態”的屬；*Phomopsis* 是“無性態”的屬，迥異於有性世代與無性世代。



圖一、子囊菌有性繁殖之 *Diaporthe* 屬、及無性繁殖之 *Phomopsis* 屬之生活史。有些種類只有無性繁殖(左)、有些種類只有有性繁殖(右)、有些種類兩者都有(中)。

Fig. 1. Life cycle of ascomycetes with sexual and asexual stages, exemplified by teleomorphic genus *Diaporthe* and anamorphic genus *Phomopsis*. Some species have only sexual stage (left); some species have only asexual stage (right); some species have both stages (middle).

只有高等真菌(子囊菌、及擔子菌)會遭遇分類難題

為何只有高等真菌？因為低等真菌(包括類真菌之卵菌、及壺菌、接合菌)，除了極少數例外，都以無性繁殖為主，反而不常看到有性繁殖，所以用無性繁殖的形態作為歸類依據，即可以對所有低等真菌進行分類。因而只有高等真菌(子囊菌、及擔子菌)在環境中經常僅有有性、或僅有無性之形態，會有命名上之困擾。

雙名制的由來

真菌之命名規則是和植物命名一致，所以真菌同樣遵循植物命名規約(ICBN；International Code of Botanical Nomenclature；於2018年以更名為International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants)之規定，真菌與植物的命名，主要不同點，就在於需因應高等真菌所具有的“有性態”、“無性態”的多型性(polymorphism)，且這兩種型態經常單獨存在的現象，而必須在植物命名規約中訂定特別的法則(Article)來規範這個特殊情況。1905年於維也納舉辦的國際植物學大會(International Botanical Congress, IBC)中，制定允許根據有性繁殖的形態(teleomorph)、及無性繁殖形態(anamorph)分別命名(Weresub & Pirozynski 1979)，這導致縱使已知道該真菌無性態之名稱，若發現其有性

型態，仍會給予另一個學名，這是在植物分類外之特許規則，就是後來大家所熟知之命名規約 Article 59 中所闡述的雙名制(dual nomenclature)(生物之學名包含屬名、種小名，稱為二名法 binary nomenclature，和雙名制是完全不同的)，這特許規定只存在於高等真菌(子囊菌、及擔子菌)。縱使如此，由於迥異於一般的植物學家對學名的觀念，所以植物學家也總困惑於為何真菌會有獨特的雙名制。而此雙名制一直實行至2012年12月31日止。在雙名制的制度下，大多數高等真菌仍只有一個名字，為有性態、或無性態之學名，只有部分種類同時具有此二者形態，也才有二者之學名，而多數子囊菌類之植物病原菌種類是具有兩個形態、兩個學名的，這是因為病原菌在生態適應上之需要，無性繁殖孢子為主要傳播、及二次感染之來源；而有性繁殖之孢子做為田間殘存、及初次感染之來源。舉“蘋果黑星病菌”為例，它同時就具有“有性”、及“無性”繁殖形態之兩個學名，而在一般病害描述的文章中，此兩個學名經常都並列，如：有性態(teleomorph)：*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter 1875。無性態(anamorph)：*Fusicladium pomi*(Fr.) Lind 1913。要強調的是，此雙名制之兩個學名間，並不是“同物異名(synonym)”的關係，在雙名制之制度下，有性態學名有自己的同物異名、無性態學名有自己的同物異名，是雙軌獨立的兩個命名體系。

雙名制的終結

隨著 1990 年代分子技術出現，利用 DNA 序列進行分類，能跨越缺少共同形態特徵的障礙，從序列比對、及親緣分析中，可以將僅具有有性態、或無性態之種類連接起來，

“具有共同的分類形態特徵”進行分類已不再是必要之條件，隨著分子序列應用在分類上越普遍，也越凸顯雙名制之矛盾。當在 BLAST 比對基因庫中序列之相似度時，結果出現兩個種名之序列完全相同，而一個是有性態之學名、一個是無性態之學名，如此容易造成困惑；當建構分子親緣演化樹時，在同一個支序群(clade)中同時包含有性、及無性態的屬、及種名，理論上這個支序群在演化上本應該歸屬於單一個屬，但因為雙名制，卻涵蓋了有性、及無性態兩個屬名，會讓人無所適從；當分子親緣分析獲得新的獨立支序群，在此新支序群中包含有性態、及無性態之菌種，而要將此群命名新屬時，要以有性態建立新屬？或以無性態建立新屬？或建立兩個新屬？這都是雙名制下的為難。終於在 2011 年於澳洲墨爾本召開第 18 屆國際植物學大會中，通過決議取消雙名制，並自 2013 年 1 月 1 日起正式生效，終止了幾十年來雙名制的爭議，廢除第 59 條法則，取而代之的是一真菌物種僅能具有一正式名稱(one fungus one name)，自此真菌的分類邁向新的時代，而該使用哪個名稱作為正式學名，是接下來需要討論的問題，估計約 2,000–3,000 個屬

名和 10,000–12,000 個種名需重新評估 (Hawksworth 2012)，而需要重新評估之詳細的理由，將在以下依不同的情況個別介紹。

One fungus one name (一真菌一學名)(1F1N)

在早期之雙名制下，有些種類只有一個有性學名、有些種類只有一個無性學名、有些種類具有有性及無性兩個學名。但在此新制下，所有真菌只使用一個學名，但到底要使用有性？或無性學名？決定真菌應該使用哪個學名，現在必須回歸到與植物命名規約完全一致之原則：最先發表的名稱擁有優先權(priority)。因為學名的組成是“屬名+種小名”，所以首先要依優先權決定屬名(Rossman 2014)，再依優先權(oldest species epithet)定種名。如早期之有性屬 *Calonectria* 1867 及無性屬 *Cylindrocladium* 1892 為相互對應相同的菌，但卻以不同分類規則命名，兩者之間獨立、互不為同物異名。但當廢除雙名制，此二屬即成為同物異名，可以用等號來連結：*Calonectria* 1867 = *Cylindrocladium* 1892。接下來面臨的是要從中選擇一個代表的屬，依優先權，*Calonectria* 比較早建立，所以就是該被使用的屬名(這樣的改變，就是前述所謂 2,000–3,000 個屬名需評估的來由)。在選擇了以 *Calonectria* 為屬名後，其內種名的處理方式，有 3 種情況：1. 本來就是 *Calonectria* 屬內的種類維持原狀；2. 本來

是 *Cylindrocladium* 屬內的種類，則必須都要轉移至 *Calonectria* 屬 (產生組合 combination 名)·這牽涉到學名的大量遷移 (這樣的改變，就是前述所謂 10,000–12,000 個“種名”需評估的來由)；3. 本來就同時具有 *Calonectria* 及 *Cylindrocladium* 兩種形態之種名，如 *Calonectria ilicicola* Boedijn & Reitsma 1950，及 *Cylindrocladium parasiticum* Crous *et al.* 1993，當然就使用 *Calonectria ilicicola* 為正確之學名，而這兩個學名間的關係是同物異名可以用 *Calonectria ilicicola* Boedijn & Reitsma 1950 = *Cylindrocladium parasiticum* Crous *et al.* 1993 表示。在此提出一個假設之情況 (非實際狀況)·假設上述兩個種名建立之時間 (1950 與 1993) 置換過來，*Calonectria ilicicola* Boedijn & Reitsma 1993 = *Cylindrocladium parasiticum* Crous *et al.* 1950，在優先權的條件下，需要將較早建立的 *Cylindrocladium parasiticum* Crous *et al.* 更改並組合為 *Calonectria parasiticum* (Crous *et al.*) Y.S. Chen, J.H. Ou & C.Y. Chen (假設是由我們進行更改)·才是正確之學名 (這也是前述所謂 10,000–12,000 個種名需評估的來由之一)。有關此種名優先權之部分，較“屬名之優先權”複雜，植物病理學者也不會需要面對這樣的選擇，比較多的疑問都是在於“為何要選擇某個屬？”·也就是前述“2,000–3,000 個屬名需要重新評估”的原由。以下就分別

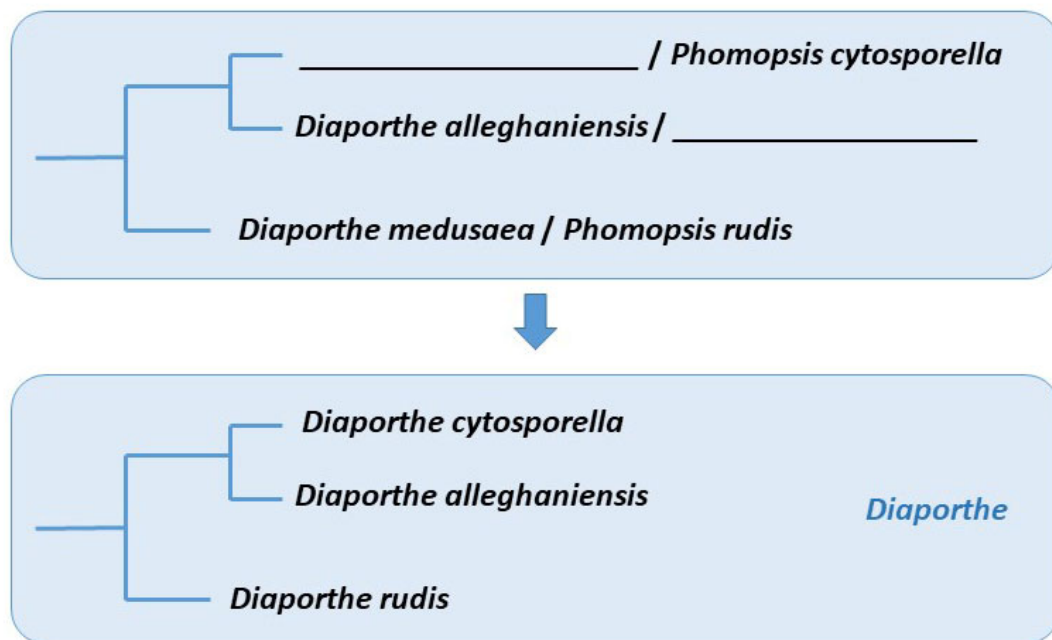
以分子序列所建構之親緣演化樹，來說明在不同的幾個情況下，由“雙名制”轉變為“一真菌一學名”時，在學名使用上的影響。之所以以親緣演化樹來說明，是因為其最能凸顯雙名制存在的問題，以及“一真菌一學名”的合理性。

(1) 在親緣演化樹關係中：有性態屬與無性態屬在相同的支序群

以 *Diaporthe* 1867 (有性態)、*Phomopsis* 1905 (無性態) 為例 (圖二)。此二屬屬於相同的支序群 (clade)，在這個例子的支序群中有 3 種 (圖二、上)，*Diaporthe alleghaniensis* 只有有性態；*Phomopsis cytospora* 只有無性態；另一真菌同時具有性態 *Diaporthe medusaea*、及無性態 *Phomopsis rudis*。在雙名制的規範下，*Diaporthe* 年代較早 (1867)，具有優先權，所以應使用 *Diaporthe* 為此支序群之屬名名稱。結果是 (圖二、下)：*Diaporthe alleghaniensis* 不變；*Phomopsis cytospora* (Penz. & Sacc.) H.S. Fawc. & H.A. Lee 必須被轉移至 *Diaporthe*，而為 *Diaporthe cytospora* (Penz. & Sacc.) Udayanga & Castl.；*Diaporthe medusaea*、及 *Phomopsis rudis* 兩個學名中，需使用前者 (Gomes *et al.* 2013) (有一個前提是 *Diaporthe medusaea* 年代需早於 *Phomopsis*

rudis · 否則就會遭遇同前述假設情況之
"Calonectria ilicicola Boedijn &
 Reitsma 1993 = *Cylindrocladium*

parasiticum Crous *et al.* 1950" 的相同
 問題)。



圖二、雙名制下的 3 個 *Diaporthe/Phomopsis* 種(上)(有性態學名在前面、無性態學名在後面、空白底線表示無該形態)；及在一真菌一學名制度下之處置(下)。

Fig. 2. Three *Diaporthe/Phomopsis* species under the rule of dual nomenclature (above)(teleomorph in front, anamorph behind. Blank underline represents the lack of one morph); Names after treatment of "one fungus one name" (below).

(2) 在親緣演化樹關係中：同一個真菌所對應的有性態屬與無性態屬，分別在不同之支序群
 以 稻 熱 病 菌 有 性 態 *Magnaporthe*

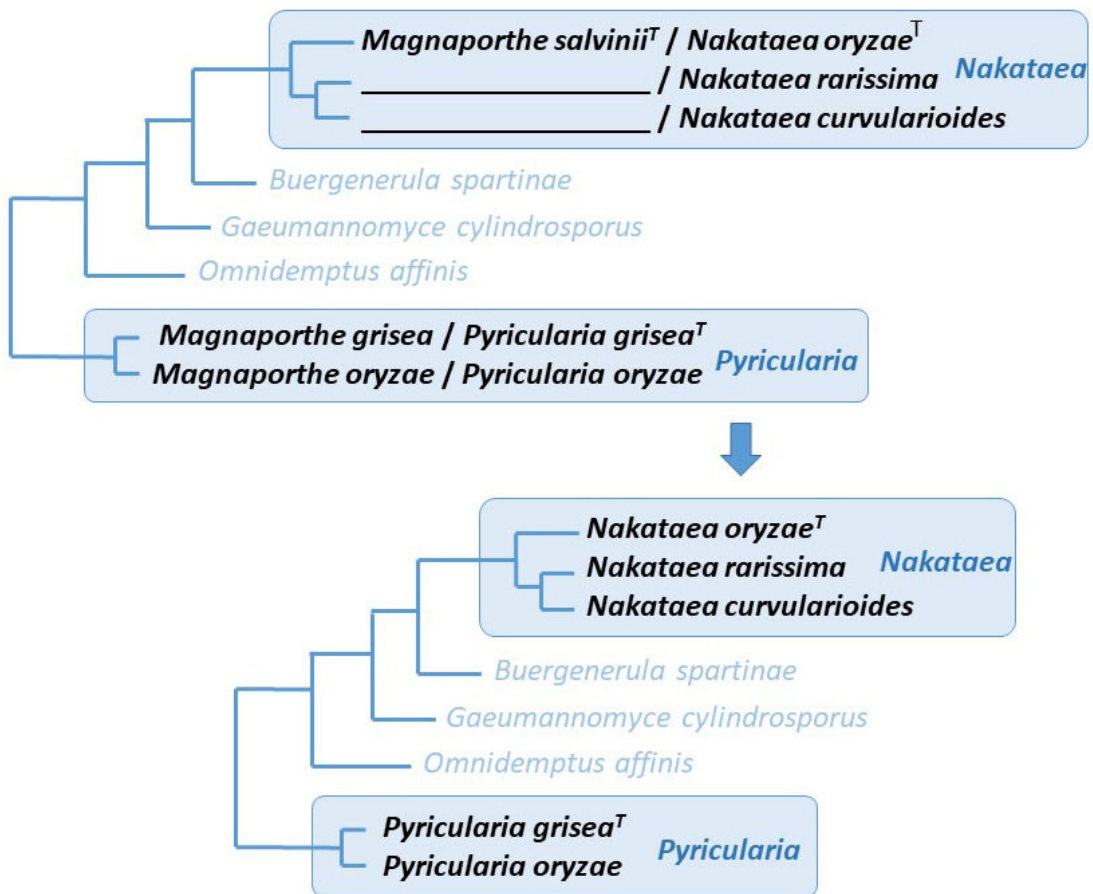
oryzae、及無性態 *Pyricularia oryzae* 為例 (圖三)。 *Magnaporthe* 屬和 *Pyricularia* 屬在親緣關係上分別屬於不同的支序群，稻熱病菌所在之支序群屬於

Pyricularia 屬，因為 *Pyricularia* 屬之模式種(type species) *P. grisea*在此支序群中，很重要之觀念，就是唯有“屬”的模式種所在之支序群，才是真正能代表該屬的所在位置。而 *Magnaporthe* 屬的模式種 *M. salvinii* 在另外一個支序群，其和 *Nakataea* 的模式種 *N. sigmoidea*(= *N. oryzae*) 歸在同一支序群，相較之下 *Nakataea* 1939 比 *Magnaporthe* 1972 年代早，所以此支序群需使用 *Nakataea* 屬名，而 *Magnaporthe* 成為 *Nakataea* 屬之同物異名(Klaubauf *et al.* 2014)。

(3) 在親緣演化樹關係中：一個無性態的屬、對應至一個以上的有性態屬

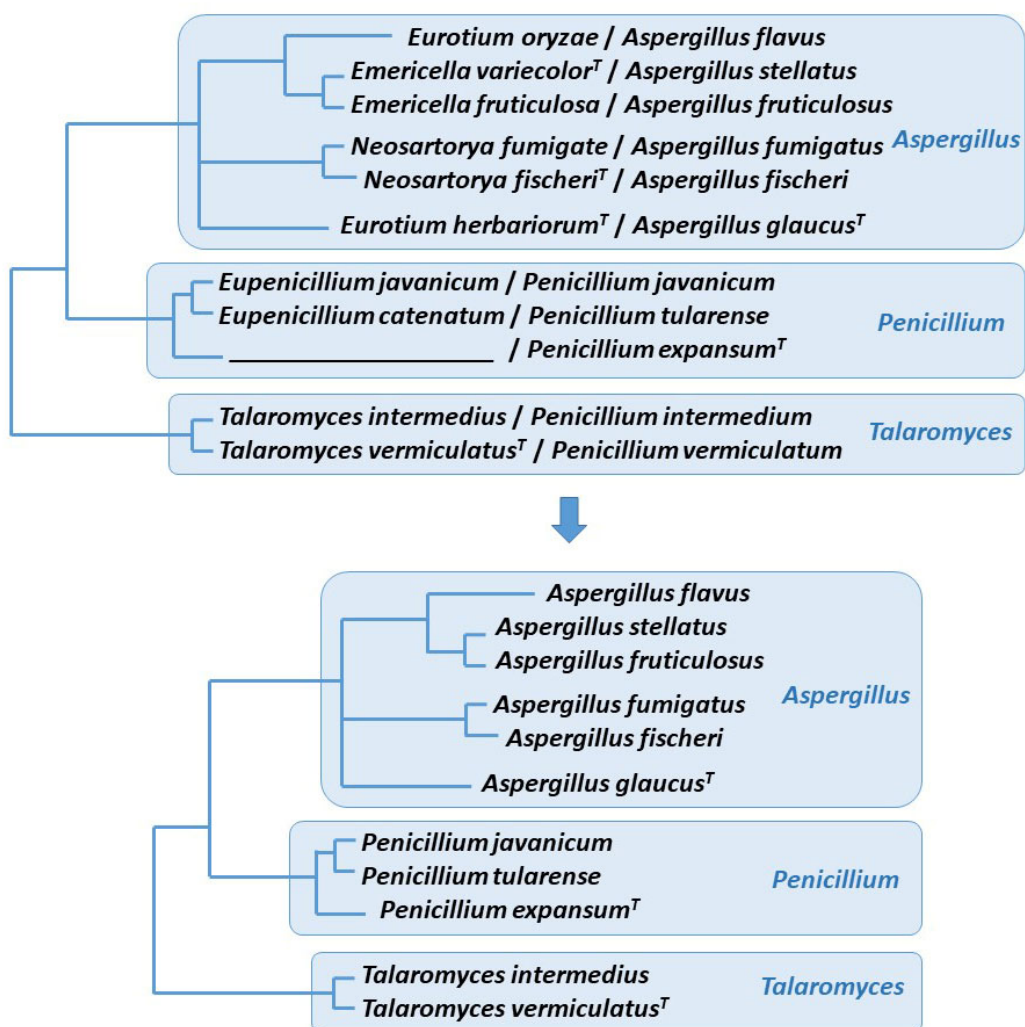
以 *Aspergillus* 無性態屬對應至有性態之 *Emericella*、*Eurotium*、*Neosatorya* 屬為例；及 *Penicillium* 無性態屬對應至有性態之 *Eupenicillium*、*Talaromyces* 屬為例(圖四)。*Aspergillus* 1768 屬之模式種為 *A. glaucus*，其與 *Emericella* 1857、

Eurotium 1809、*Neosatorya* 1973 屬之模式種 *Em. varievolar*、*Eu. harbariorum*、*N. fischeri* 歸在同一個支序群中，所以這 4 個屬名都有資格角逐來代表這個支序群的屬名，在比較優先權後，*Aspergillus* 屬建立之年代最久遠(1768)，所以應使用 *Aspergillus* 屬來概括所有這個支序群中之種類(其他 3 個屬變為 *Aspergillus* 屬之同物異名)。*Penicillium* 1809 屬之模式種 *P. expansum* 所在之支序群，與有性態屬 *Eupenicillium* (1892) 在一起(*Eupenicillium* 模式種亦在此支序群，但並沒有呈現在圖四中)，比較年代後，以 *Penicillium* 屬為之支序群之代表。有些 *Penicillium* 屬之種類自成另一個支序群，此支序群亦包含 *Talaromyces* 屬之模式種 *T. vermiculatus*，毫無疑義的，此支序群只能稱之為 *Talaromyces* (Zhang *et al.* 2013)，而不能是 *Penicillium*。



圖三、雙名制下稻熱病菌 *Magnaporthe oryzae* (有性態)/*Pyricularia oryzae* (無性態) · 及 3 個屬 *Magnaporthe*、*Pyricularia*、*Nakataea* (上)(有性態學名在前面、無性態學名在後面、空白底線表示無該形態)；及在一真菌一學名制度下之處置(下)。(註：上標 T 代表模式種)

Fig. 3. Scientific name of rice blast pathogen under dual nomenclature, *Magnaporthe oryzae* (teleomorph)/*Pyricularia oryzae* (anamorph). Three genera *Magnaporthe*, *Pyricularia* and *Nakataea* are shown in the phylogram (teleomorph in front, anamorph behind. Blank underline represents the lack of one morph); Names after treatment of "one fungus one name" (below).



圖四、雙名制下有性態 *Emericella*、*Eurotium*、*Neosartorya* 可對應到無性態之 *Aspergillus*；有性態 *Eupenicillium*、*Talaromyces* 可對應到無性態之 *Penicillium* (上)(有性態學名在前面、無性態學名在後面、空白底線表示無該形態)。及在一真菌一學名制度下之處置(下)。(註：上標 T 代表模式種)

Fig. 4. Under the rule of dual nomenclature, teleomorphic genera *Emericella*, *Eurotium*, and *Neosartorya* were connected with anamorphic genus *Aspergillus*; teleomorphic genera *Eupenicillium* and *Talaromyces* were connected to anamorphic genus *Penicillium*. (teleomorph in front, anamorph behind. Blank underline represents the lack of one morph); Names after treatment of "one fungus one name" (below). (Note: superscript T represents "type species")

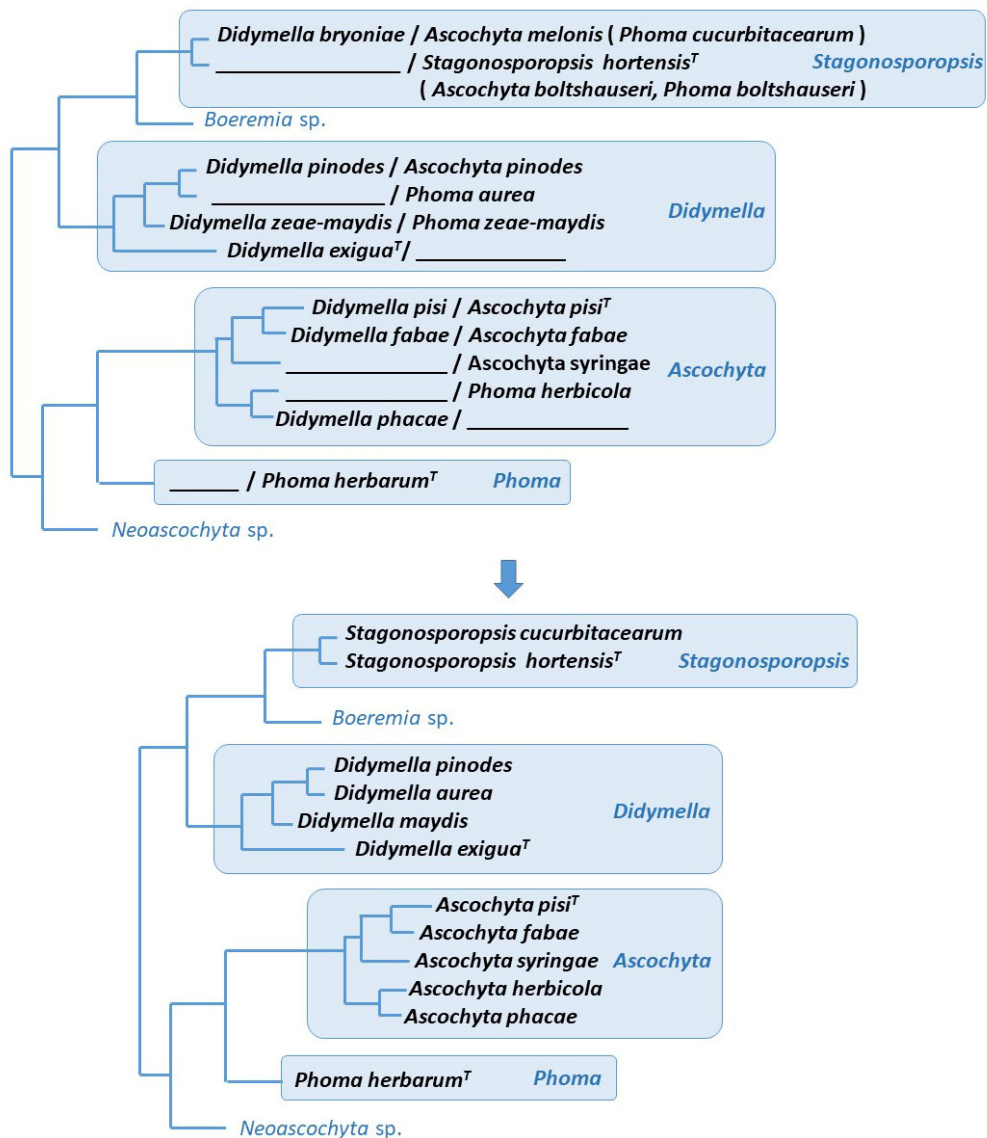
(4) 在親緣演化樹關係中：一個真菌所對應的有性態屬、及無性態屬為不同的支序群，而這個真菌卻是歸屬於其他的支序群

以瓜類蔓枯病菌為例，其有性態為 *Didymella bryoniae*、無性態為 *Ascochyta melonis*，但此真菌卻被歸在 *Stagonosporopsis* 屬(圖五)。真正能代表 *Didymella* 屬的模式種為 *D. exigus*，能代表 *Ascochyta* 屬的模式種為 *A. pisi*，兩者分別在各自之支序群中，但這兩個支序群裡面並沒有瓜蔓枯病菌之真菌 (*Didymella bryoniae* 或 *Ascochyta melonis*)，所以瓜蔓枯病菌不會再屬於 *Didymella* 屬、或 *Ascochyta* 屬。但它要被歸在哪一屬呢？此真菌所在之支序群中，正好具有 *Stagonosporopsis* 屬之模式種 *S. hortensis*，所以瓜蔓枯病菌就該被歸在 *Stagonosporopsis* 屬中。然後在整合所有瓜蔓枯病菌之同物異名中，發現具有年代最久遠種小名的 *Phoma*

cucurbitacearum，在種名的優先權下，將此學名轉移至 *Stagonosporopsis* 屬中，而成為 *S. cucurbitacearum* (Aveskamp *et al.* 2010)。

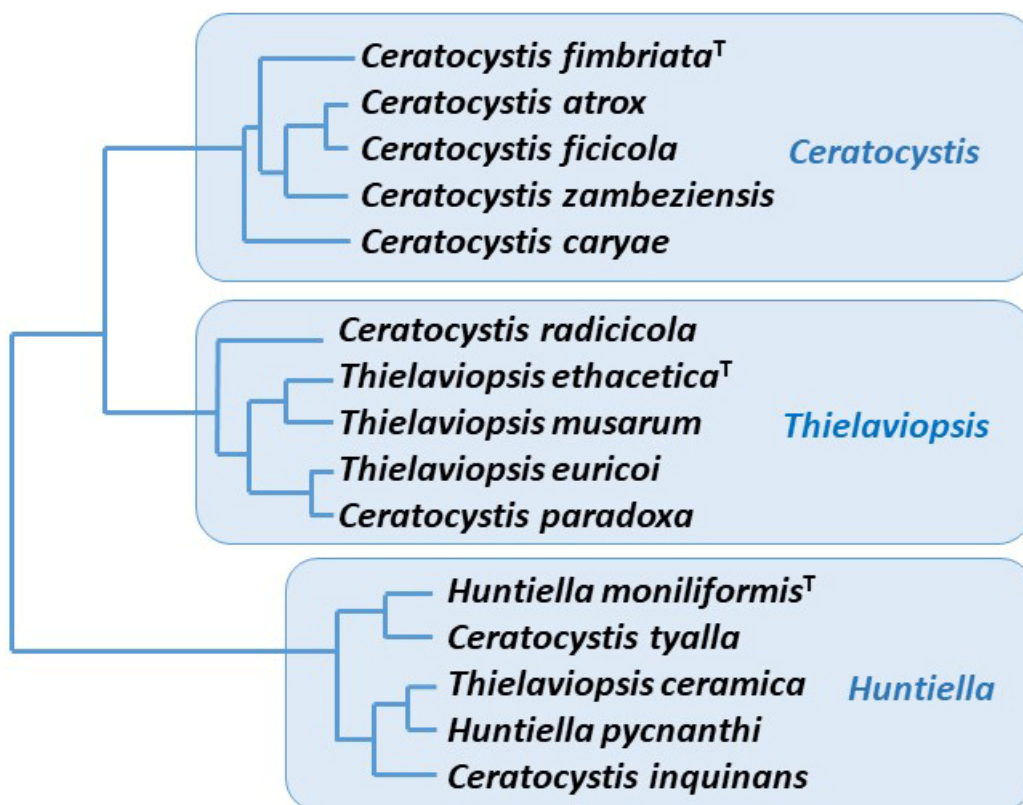
(5) 在親緣演化樹關係中：屬名的選擇

前述之例子已說明了選擇“屬”名來代表親緣關係之個別支序群之原則，也就是該支序群必須具有該屬的模式種，而若該支序群含有一個已上屬之模式種，則需從中選擇年代最早之屬名。在建立親緣關係樹時，已經不需考慮所分析之菌種是有性態、或無性態(在新制中已無此區分)，把相關的種類一併收集來分析(圖六)，在每個支序群中菌種的名稱可能有好幾個不同的屬名、或甚至重複的屬名，但唯有這個屬的模式種所在之支序群，這個支序群才能代表該屬。在此 3 個支序群分別屬於 *Ceratocystis*、*Thielaviopsis*、*Huntia* (de Beer *et al.* 2014)。



圖五、雙名制下，有性態瓜蔓枯病菌歸類在 *Didymella* 有性態屬、及 *Ascochyta* 無性態屬，在親緣關係上 *Didymella* 屬、*Ascochyta* 屬、及瓜蔓枯所在之支序群(*Stagonosporiopsis*)各自為獨立(上)(有性態學名在前面、無性態學名在後面、空白底線表示無該形態)。及在一真菌一學名制度下之處置(下)。(註：上標 T 代表模式種)

Fig. 5. Under the rule of dual nomenclature, gummy stem blight of cucurbits is caused by the fungus with two names under the genera *Didymella* (teleomorph) and *Ascochyta* (anamorph) respectively. In the phylogram *Didymella*, *Ascochyta*, and *Stagonosporiopsis* represent 3 different clades. (teleomorph in front, anamorph behind. Blank underline represents the lack of one morph); Names after treatment of "one fungus one name" (below). (Note: superscript T represents "type species")



圖六、在一真菌一學名規則中，不需考慮個別菌種之有性態、或無性態，直接進行親緣分析，支序群中包含屬的模式種，才能代表該屬。(註：上標 T 代表模式種)

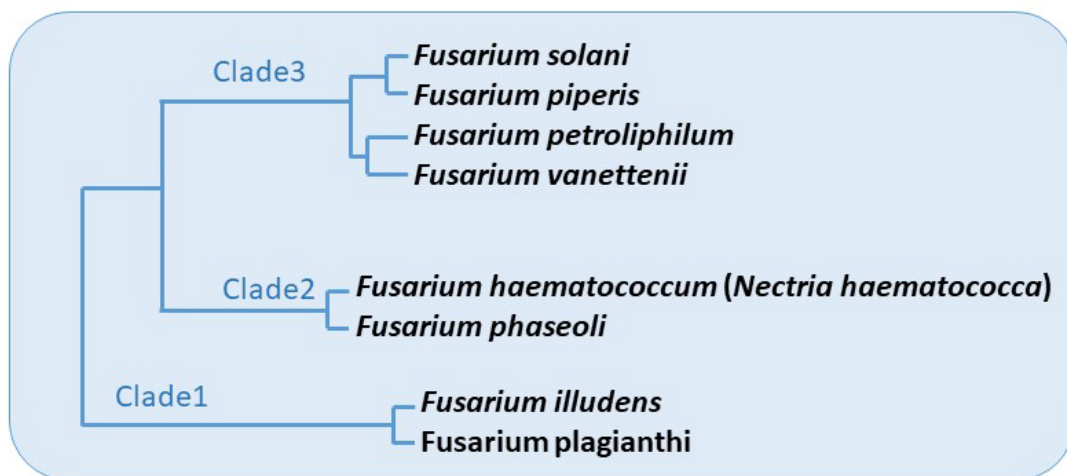
Fig. 6. Under the rule of one fungus one name, species are incorporated into the phylogram for analysis whatever the name is teleomorph or anamorph. The clade can represent a genus when the clade contains its type species.

(6) 在親緣演化樹關係中：以前被視為同一真菌而互為有性態、無性態的兩個種，卻被發現原來是不同的真菌
以 *Fusarium solani* 對應之有性態 *Nectria haematococca* 為例(圖七)。圖中所示為 *Fusarium solani* species

complex 之 3 個支序群分，親緣分析後的結果發現，早期以為的 *Nectria haematococca* 有性態、對應 *Fusarium solani* 無性態之關係有誤，此 2 學名分別代表不同之菌種。也就是說，在雙名制實行的年代，有可能早期為是相同的菌種，

互為有性態、及無性態的兩個種，其實是不同的真菌(以前錯誤的將其連結在一起)。實際上 *Nectria haematococca* 之

無性態是對應至 *Fusarium haematococca*，兩者互為同物異名 (Schroers *et al.* 2016)。



圖七、*Fusarium solani* species complex 可區分為 3 個支序群，而 *Fusarium solani* 和早期認知為其有性態之 *Nectria haematococca* 實際上歸屬於不同之支序群。而 *Nectria haematococca* 和 *Fusarium haematococca* 為同物異名。

Fig. 7. *Fusarium solani* species complex can be divided into 3 clades. *Fusarium solani* was connected to the teleomorph *Nectria haematococca*. However, *Fusarium solani* and *Nectria haematococca* are actually different species as shown in the phylogram. Currently *Nectria haematococca* is the synonym of *Fusarium haematococca*.

使用正確之真菌學名

為了順利達成一真菌一學名的任務，國際真菌分類委員會 (International Commission on the Taxonomy of Fungi, ICTF) 下設立工作組，其中包含植物病原真菌

分類委員會，ICTF 網站 (<https://www.fungaltaxonomy.org/>) 會發布植物病原真菌的正確學名及重要種名列表，而有關真菌分類、DNA 條形碼的使用、發佈新種的指南也刊登在此網站上。也有其他重要網站可以查詢在“一真菌一學名”後的正

確學名，如 U.S. National Fungus Collections Databases (<https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>)收錄植物病原真菌之學名，並提供寄主與分布的資訊，MycoBank (<https://www.mycobank.org/>)與 Index Fungorum (www.indexfungorum.org/Names/Names.asp)收錄所有真菌的學名。以上網站之公開資訊雖然不盡完備，但可以提供非常有參考價值之學名資訊。

真菌之 DNA 條碼

DNA 條碼(DNA barcoding)是利用定序技術，取得生物基因體內的特定 DNA 區間的序列，並利用該序列的多樣性，來進行物種的鑑定或演化分析。而該特定的 DNA 區間通常具備幾種特性：(1)在所有個體中普遍存在，並鄰近於可用於設計擴增引子的保守性區間；(2)長度適中(約 600–1000 bp)，有助於在微量樣品之 DNA 萃取、PCR 及定序反應的成功率；(3)在物種間具有高變異性(Kress & Erickson 2008)。不同生物所使用的 DNA 條碼常有所不同。如動物與植物之細胞核中，常常具有多套染色體，且核 DNA 中常有異型合子、頻繁重組、跳躍子存在，不利於需高度專一性的 PCR 及定序反應。因此粒線體的 CO1 及葉綠體的 *rbcL*、*matK* 基因便分別成為動物與植物 DNA 條碼的首選。而真菌由於生物量低，且常棲息於複雜的環境中，分析過程常僅能獲得微量的 DNA 樣

品。因此目前大多數研究是使用在核 DNA 中的 rDNA 的內轉錄區間(internal transcribed spacer·ITS)。其長度短(約 500–800 bp)、核內重複數高，又鄰近於具高度保守性的核糖體小次單元與大次單元，因此在分析過程中具有相當高的穩定性與成功率(>90%，Stielow *et al.* 2015)。

在取得 ITS 區間序列後，需要與既有的序列資料庫進行比對、尋找相似的物種。目前，最常使用的序列資料庫為國際序列資料庫協作(INDSC，International Nucleotide Sequence Database Collaboration)之資料。此資料庫聯合 DDBJ/EMBL/GenBank 世界三大序列資料庫，目前已累積超過 2 億條 DNA 序列。但也由於序列資料龐大，要一一比對是不可能的。因此目前大多研究者是使用由美國國家生物技術資訊中心(NCBI)開發之 BLAST 啟發式演算法(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)進行比對。BLAST 演算法犧牲了部分精確度但換取了高效地在龐大的資料庫中尋找相似序列的能力。如此即可在短短幾分鐘掃描所有資料庫內的序列並挑出具有高相似度的序列回傳給使用者。

儘管過去數十年來，DNA 條碼之技術已經相當成熟，但使用上仍有許多需要注意之處。首先，目前最常使用的 INDSC 資料庫，其序列來自世界各地的研究者。然而資料庫本身並不具有審核機制，又並非所有研究者都熟悉真菌分類。因此在資料庫中，有高達

20%的真菌 ITS 序列，其物種名稱是錯誤的 (Kopchinskiy 2005; Bridge *et al.* 2003)。因此檢視比對結果時，必須注意 3 個重點：第一，確認序列來源是可信的，或儘量僅參考來自模式菌株的序列。第二，由於 BLAST 演算法設計上犧牲了部分精確度，因此在不當的設定下，有可能遺漏部分具有同源性的序列，造成錯誤的判讀結果。因此使用時必須詳讀操作頁面的說明。第三，儘管 ITS 區間具有高度變異性，然而不同類群的真菌，演化速率也有所不同。近年有許多研究發現，ITS 區間對於許多類群，例如：*Aspergillus*、*Penicillium*、*Fusarium*、*Cladosporium* 等屬內的物種僅有至亞屬的鑑別力 (O' Donnell & Cigelnik 1997; Schubert *et al.* 2007; Skouboe *et al.* 1999)。亦即多個類似的物種可能具有完全相同的 ITS 序列。目前並無單一的相似度閾值能夠精確地切分出所有物種，必須視每一類群的演化速率進行調整。對於利用次世代定序進行的生物相研究，由於資料量大，則普遍使用相似度 97% 作為初步切分物種的閾值 (Blaalid *et al.* 2013; Kõljalg *et al.* 2013)。

結語

由雙名制邁入一真菌一學名已將近 10 年，但百年來習慣之雙名制用法仍為多數學者所採用，仍正在調適轉換，況且無數的早期科學文章皆是以雙名制之方式編寫學名，所以縱使現在已邁入一真菌一學名的紀元，對

於以往之雙名制之細節仍需熟悉，而這樣的過度階段想必也需要很長的一段時間。制定正確、且合乎親緣的學名是整個新規範所努力的方向，對於長遠學名之穩定有其必要性，期盼所有病理學的者們皆能逐漸習慣此新制之改變，再輔以正確的使用 DNA 條碼進行鑑定，使整體植物病原真菌學名之使用能更加流暢。

參考文獻

- Aveskamp, M. M., J. De Gruyter, J. H. C. Woudenberg, G. J. M. Verkley, and P. W. Crous. 2010. Highlights of the Didymellaceae: a polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology* 65: 1–60.
- de Bary, A. 1854. Ueber die Entwicklung und den Zusammenhang von *Aspergillus glaucus* und *Eurotium*. *Botanische Zeitung* 12: 425.
- de Beer, Z. W., T. A. Duong, I. Barnes, B. D. Wingfield, and M. J. Wingfield. 2014. Redefining *Ceratocystis* and allied genera. *Studies in Mycology* 79: 187–219.
- Crous, P. W., A. Y. Rossman, M. C. Aime, W. C. Allen, T. Burgess, J. Z. Groenewald, and L. A. Castlebury.

2021. Names of phytopathogenic fungi: a practical guide. *Phytopathology*. 111: 1500–1508.
- Blaalid, R., S. Kumar, R. H. Nilsson, K. Abarenkov, P. M. Kirk, and H. Kauserud. 2013. ITS1 versus ITS2 as DNA metabarcodes for fungi. *Mol. Ecol. Resour.* 13: 218–224.
- Bridge, P. D., P. J. Roberts, B. M. Spooner, and G. Panchal. 2003. On the unreliability of published DNA sequences. *New Phytologist* 160: 43–48.
- Gomes, R., C. Glienke, S. Videira, L. Lombard, J. Groenewald, and P. W. Crous. 2013. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia* 31: 1–41.
- Hawksworth, D. L. 2012. Managing and coping with names of pleomorphic fungi in a period of transition. *IMA fungus*. 3: 15–24.
- Hawksworth, D. L. and R. Lücking. 2017. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiology Spectrum*. 5: 5–4.
- Klaubauf, S., D. Tharreau, E. Fournier, J. Z. Groenewald, P. W. Crous, R. P. de Vries, and M-H. Lebrun. 2014. Resolving the polyphyletic nature of *Pyricularia* (Pyriculariaceae). *Stud Mycol.* 79: 85–120.
- Kõljalg, U., R. H. Nilsson, K. Abarenkov, L. Tedersoo, A. F. S. Taylor, *et al.* 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology* 22: 5271–5277.
- Kopchinskiy, A., M. Komoń, C. P. Kubicek, and I. S. Druzhinina. 2005. TrichoBLAST: a multilocus database for *Trichoderma* and *Hypocrea* identifications. *Mycol. Res.* 109: 658–660.
- Kress, W. J. and D. L. Erickson. 2008. DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 2761–2762.
- O' Donnell, K. and E. Cigelnik. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Mol Phylogenet Evol* 7: 103–116.
- Rossman, A. Y. 2014. Lessons learned from moving to one scientific name for fungi. *IMA fungus*. 5: 81–89.
- Schroers, H. J., G. J. Samuels, N. Zhang, D. P. G. Short, J. Juba, and D. M. Geiser. 2016. Epitypification of *Fusisporium*

- (*Fusarium*) *solani* and its assignment to a common phylogenetic species in the *Fusarium solani* species complex. *Mycologia* 108: 806–19.
- Schubert, K., J. Z. Groenewald, U. Braun, J. Dijksterhuis, M. Starink, C. F. Hill, P. Zalar, G. S. de Hoog, and P. W. Crous. 2007. Biodiversity in the *Cladosporium* herbarum complex (Davidiellaceae, Capnodiales), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. *Studies in Mycology* 58: 105–156.
- Skouboe, P., J. C. Frisvad, J. W. Taylor, D. Lauritsen, M. Boysen, and L. Rossen. 1999. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences from the ITS region of terverticillate *Penicillium* species. *Mycological Research* 103: 873–881.
- Stielow, J.B., C. A. Lévesque, K. A. Seifert, W. Meyer, L. Iriny, D. Smits, R. Renfurm, G. J. M. Verkley, M. Groenewald, *et al.* 2015. One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes. *Persoonia* 35: 242–263.
- Tulanse, L. R. 1851. Note sur' appareil reproducteur dans les lichens et les Champignons (1 ière partie). *C.R. Acad. Sci. Paris* 32: 427–430.
- Weresub, L. K. and , K. A. Pirozynski. 1979. Pleomorphism of fungi as treated in the history of mycology and nomenclature. In: *The Whole Fungus* 1 (B. Kendrick, ed.), pp. 17–25. Ottawa, ON: National Museums of Canada.
- Zhang, N., A. Y. Rossman, K. Seifert, J. W. ennett, G. Cai, L. Cai, B. Hillman, K. D. Hyde, J. Luo, D. Manamgoda, W. Meyer, T. Molnar, C. Schoch, M. Tadych, and J. F., Jr. White. 2013. Impacts of the International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants (Melbourne Code) on the scientific names of plant pathogenic fungi. doi:10.1094/APSFeature-2013-06.

Naming and Identifying Plant Pathogenic Fungi

Yi-Siou Chen¹, Jie-Hao Ou¹, and Chi-Yu Chen^{1,*}

¹Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan ROC

Abstract

Plant pathologists are usually perplexed by the complexity of fungal scientific names, and consider that the fungal nomenclature is hardly understood. Indeed, there was a unique regulation allowed to be implemented in fungi, i.e. dual nomenclature. Although dual nomenclature violated the principle of natural classification, it had been followed for more than one hundred years. With the common application of DNA sequences in fungal taxonomy, the dual nomenclature has been no longer necessary, and thereby has been abolished since 1 Jan 2013. The rule of fungal nomenclature turned into "one fungus one name", a principle which is taken for granted in other organisms. This change in fungal nomenclature is essential. However, it resulted in change of numerous names of fungi. To realize how the names change is important for whoever use fungal names, especially for plant pathologists. There are clear standards for making the name changes. These standards will be interpreted herein. The origin of dual nomenclature, the operation of dual nomenclature, the principle of one fungus one name, and the influence of names after the implementation of one fungus one name are elucidated. It will be helpful for accurately naming and identifying plant pathogenic fungi. DNA barcoding has become indispensable in identifying fungi. There are some aspects required to be noticed during its application. Hopefully the identification of fungi will become easier if the DNA barcoding can be properly applied.

Key words: fungal nomenclature, dual nomenclature, one fungus one name, DNA barcoding

*Corresponding author.

E-mail: chiyu86@dragon.nchu.edu.tw

命名及鑑定植物病原真菌 240

植物病原細菌分類與鑑定技術-以軟腐細菌為例

蔡佳欣¹ 古家榮^{2,*}

¹行政農業委員會農委會農業試驗所植物病組。台灣 台中市。

²財團法人食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心。台灣 新竹市。

摘要

近年隨著植物病原細菌研究的進步，在分類上出現明顯的變化，以原屬於 *Erwinia* 之軟腐細菌為例，已被拆分至 *Pectobacterium* 及 *Dickeya* 屬，其內一些亞種被提升至種的層級，新種陸續不斷的發表。為滿足日益複雜的病原細菌鑑定需求，除了傳統鑑定技術外，利用次世代定序、基因組裝、數位化核酸雜合(digital DNA-DNA hybridization, dDDH) 及平均核苷酸相似度計算 (average nucleotide identity, ANI)，可獲得具信賴的數據，應用在鑑定屬內相近的細菌種類，已廣泛為學者採用。

關鍵詞：分類、鑑定、軟腐細菌、數位化核酸雜合、平均核苷酸相似度計算

前言

近年由於植物病原細菌研究的發展，植物病原細菌分類不斷的改變，從 Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria 一書中，可知重要植物病原細菌，可分為革蘭氏陽性菌與革蘭氏陰性菌，在革蘭氏陰性菌中，主要的病原細菌有 *Erwinia*、*Pantoea*、*Pseudomonas*、*Acidovorax*、*Ralstonia*、*Burkholderia*、*Agrobacterium*、*Xanthomonas*、*Xylella* 等屬 (Schaad *et al.* 2001)。革蘭氏陽性菌主要

有 *Clavibacter*、*Streptomyces* 等屬。然而近年來由於分子生物學以及生物資訊學的進步，細菌分類地位不斷的更動。在屬 (genus) 的層級上，*Erwinia* 陸續被拆分成了 5 個屬包括 *Erwinia*、*Pectobacterium*、*Dickeya*、*Pantoea* 及 *Brenneria*。此外在種 (species) 的層級上則不斷的有新物種發表以及種名改變。在細菌學名分類快速變動的情況下，各國在農產品進出口檢疫勢必因病原細菌學名的變化而產生檢疫條件及措施的改變，因此在國際貿易檢疫的工作上，需不斷的蒐集國際的疫情資料，即時的更新病原細菌的學名，在

*論文聯繫人

E-mail: jrg.firdi@gmail.com

國內防疫工作，亦須掌握國內已存在的植物病原菌種類，以因應日益複雜的農產品進出口檢疫及國內病害防疫工作。

一、軟腐細菌分類地位的變化

細菌分類學和命名法可參考原核生物系統學國際委員會(International Committee on Systematics of Prokaryotes, ICSP)所訂定之國際原核生物命名法規(International Code of Nomenclature of Prokaryotes, ICNP)。細菌學名需發表在國際分類期刊 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM) 才被視為有效發表。發表在 IJSEM 以外的學術期刊細菌學名則需要再經過 IJSEM 審核確認並公告於 IJSEM 的 Validation Lists 清單之後，才能成為有效學名。

在重要植物病原細菌中，植物軟腐細菌原屬於 *Erwinia* 屬，Hauben 等人 (1998) 依照 16S rDNA 序列的差異，將其歸入 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*、*P. c.* subsp. *atrosepticum*、*P. c.* subsp. *betavasculorum*、*P. c.* subsp. *odoriferum*、*P. c.* subsp. *wasabiae* 5 個亞種以及 *P. cacticidum*、*P. chrysanthemi*、*P. cypripedii* 3 個種。Gardan 等人 (2003) 進一步依據 16S rDNA 序列、血清學及 DNA-DNA 雜合反應等結果，再將 *P. carotovorum* 中 3 個亞種提升至種的地位，分別為 *P. atrosepticum*、*P. betavasculorum*

與 *P. wasabiae*。之後仍不斷有 *P. c.* 的新亞種被報導，包括有 *P. c.* subsp. *brasiliensis* (Duarte *et al.* 2004; El Tassa and Duarte 2004) 和 *P. c.* subsp. *actinidiae* (Koh *et al.* 2012)。Zhang 等人 (2016) 以 *isDDH* 以及 ANI 數值分析 *Pectobacterium* 屬細菌，認為應將 *Pectobacterium carotovorum* (*P. c.*) 之 4 個亞種 (subspecies)，包括 *P. c.* subsp. *actinidiae*、*P. c.* subsp. *odoriferum*、*P. c.* subsp. *carotovorum* 及 *P. c.* subsp. *brasiliense* 提升至種的層級，並發現有成為新種的潛力菌株。在 2019 年，*P. odoriferum*、*P. brasiliense*、*P. actinidiae*、*P. versatile* 在 IJSEM 期刊發表，並修正 *P. carotovorum* 的描述 (Portier *et al.* 2019)。至 2021 年 *Pectobacterium* 已達到了 20 個種 (Zhou *et al.* 2022)。

另一重要的 *Dickeya* 屬之植物軟腐細菌，原為 *Pectobacterium chrysanthemi*，Samson 等人 (2005) 以 16S rDNA 序列、表現型數值、血清學特性及 DNA-DNA 雜合反應等資料，成立 *Dickeya* 屬並將 *P. chrysanthemi* 重新分配到 6 個新種，分別為 *D. chrysanthemi*、*D. dadantii*、*D. dianthicola*、*D. dieffenbachiae*、*D. paradisiaca*、*D. zeae*。其中 *D. dieffenbachiae* 後續再被重新分類為 *D. dadantii* subsp. *dieffenbachiae* (Brady *et al.* 2012)。之後不斷有學者發表 *Dickeya* 屬之新物種，包括有 *D. aquatic* (Parkinson *et*

al. 2014) 、 *D. solani* (van der Wolf *et al.* 2014) 、 *D. fangzhongdai* (Tian *et al.* 2016) 、 *D. lacustris* (Hugouvieux-Cotte-Pattat *et al.* 2019) 、 *D. undicola* (Oulghazi *et al.* 2019) 、 *D. poaceiphila* (Hugouvieux-Cotte-Pattat *et al.* 2020) 、 *D. oryzae* (Wang *et al.* 2020) 、 *Dickeya parazeae* (Hugouvieux-Cotte-Pattat and Van Gijsegem 2021) 等，至 2021 年 *Dickeya* 屬之物種已達到 13 種。

在台灣重要且寄主範圍廣泛的軟腐細菌，主要有 *P. c. subsp. carotovorum* (Pcc) 及 *P. chrysanthemi* (Pch) (Huang *et al.* 2007) 。隨著學名不斷的變動，經學者研究台灣在 *Pectobacterium* 屬存在之物種有 *P. brasiliense* 、 *P. versatile* 、 *P. aroidearum* 等 3 種以上 (Chen *et al.* 2020; Kao *et al.* 2022) 。 *Dickeya* 屬有 *D. dadantii* , *D. chrysanthemi* , *D. undicola* , and *D. fangzhongdai* (Tsai *et al.* 2019; Wei *et al.* 2021) 。

二、植物病原細菌的鑑定技術

植物病原細菌鑑定方式，早期傳統上以細菌形態、菌落培養特徵、生理生化特性之表現型特徵 (phenotypic characteristics) 分析，隨著生化及分子生物技術的進步，API 細菌鑑定套組、Biolog 細菌鑑定系統、細菌脂肪酸分析、基質輔助雷射解吸電離飛行時間質譜 (matrix-assisted laser

desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) 之蛋白質圖譜分析並輔以 DNA/DNA 雜合技術、細菌特定基因序列分析如 16S rDNA 、 ITS DNA 及管家基因 (housekeeping gene) 等之基因型特徵 (genotypic characteristics) ，有助於釐清以傳統表現型特徵分析上，不易區分之細菌種類，此種以多相數據進行互相印證方式，即為多相分類 (polyphasic taxonomy) 。

在細菌分類鑑定，同一屬內之近似種或同一種內之亞種細菌的鑑定，有時不易以傳統的表現型特徵進行確認，大多須再採用核酸序列分析輔以證明，目前學者廣泛採用的方式有細菌特定基因序列的比對以及利用多基因序列分析 (multilocus sequence analysis, MLSA) ，以多個具有保守功能的蛋白質部分基因序列之管家基因，建立細菌的親緣關係圖，用以分辨近似的細菌物種 (Glaeser and Kämpfer 2015) 。

近來由於次世代定序 (next-generation sequencing, NGS) 技術的發展，該技術所產生的細菌 DNA 短片段可經生物資訊軟體進行 de novo 組裝成基因體草圖 (draft genome sequence) ，得到近乎細菌全基因體序列，此細菌基因體序列可經數位化核酸雜合 (dDDH) 或平均核苷酸相似度計算 (ANI) ，可進一步對物種進行分辨。dDDH 的臨界值 (threshold) 為 70% ， ANI 的臨界值 95-96% 。 (Lee *et al.* 2016; Meier-

Kolthoff *et al.* 2013)。目前 NGS 技術發展越趨成熟，成本已逐漸降低至一般實驗室可負擔的水平，利用該技術可得到具信賴的數據，因此逐漸廣為各領域學者應用，近年新發表的細菌植物病原細菌新種，或原為亞種的細菌提升至種的層級，大多須具備 MLSA、dDDH 及 ANI 的數據分析，如上節所提到革蘭性陰性菌之軟腐細菌 *Pectobacterium* 及 *Dickeya* 屬的多種新種細菌的發表。另外革蘭性陽性菌中之重要國際檢疫細菌 *Clavibacter michiganensis* (*C. m.*) 的多個亞種包括 *C. m. subsp. sepedonicus*、*C. m. subsp. insidiosus*、*C. m. subsp. nebraskensis*、*C. m. subsp. tessellarius*、*C. m. subsp. capsici*，以更多數據佐證後，提升至種的層級 *C. sepedonicus*、*C. insidiosus*、*C. nebraskensis*、*C. tessellarius*、*C. capsici* (Li *et al.* 2018)，且仍不斷有新種發表 *Clavibacter zhangzhongyongii* (Tian *et al.* 2021)。

總結

隨著次世代定序技術與生物資訊技術的進步，顯示以生物資訊學(bioinformatics)分析細菌全基因體已成為細菌鑑定上的重要方式。被發表的病原細菌物種不斷增加且學名的變動，造成細菌的分類漸趨複雜，國際農產品檢疫勢必採用有效發表的學名作為依據，因此蒐集最新的國際疫情、增加國際學術合作、生物資源的交流、掌握國內病原細菌種

類，並建立重要檢疫細菌鑑定技術，方能與國際接軌，以處理我國農產品進出口的檢疫問題。此外利用次世代定序所得的龐大數據中，可經由基因註釋，從中發掘有用的基因組序列資訊，可用來開發病原細菌快速偵測技術以供國內防疫與邊境檢疫的時效性需求。

參考文獻

- Brady, C. L., I. Cleenwerck, S. Denman, S. N. Venter, P. Rodríguez-Palenzuela, T. A. Coutinho and P. De Vos. 2012. Proposal to reclassify *Brenneria quercina* (Hildebrand and Schroth 1967) Hauben *et al.* 1999 into a new genus, *Lonsdalea* gen. nov., as *Lonsdalea quercina* comb. nov., descriptions of *Lonsdalea quercina* subsp. *quercina* comb. nov., *Lonsdalea quercina* subsp. *iberica* subsp. nov. and *Lonsdalea quercina* subsp. *britannica* subsp. nov., emendation of the description of the genus *Brenneria*, reclassification of *Dickeya dieffenbachiae* as *Dickeya dadantii* subsp. *dieffenbachiae* comb. nov., and emendation of the description of *Dickeya dadantii*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 62: 1592–1602.

- Chen, L. R., P. R. Lin and C. J. Huang. 2020. First Report of *Pectobacterium aroidearum* Causing Soft Rot Disease of White Calla Lily in Taiwan. Plant Disease 104: 563.
- Duarte, V., S. H. de Boer, L. J. Ward and A. M. de Oliveira. 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. J. Appl. Microbiol. 96: 535–545.
- El Tassa, S. O. M. and V. Duarte. 2004. Occurrence of pectobacteria in potato seed tubers in Rio Grande do Sul. Fitopatologia Brasileira 29: 620–625.
- Gardan, L., C. Gouy, R. Christen and R. Samson. 2003. Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavascularum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. I Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53: 381–391.
- Glaeser, S. P. and P. Kämpfer. 2015. Multilocus sequence analysis (MLSA) in prokaryotic taxonomy. Syst. Appl. Microbiol. 38: 237–245.
- Hauben, L., E. R. Moore, L. Vauterin, M. Steenackers, J. Mergaert, L. Verdonck and J. Swings. 1998. Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. Syst. Appl. Microbiol. 21: 384–397.
- Huang, D. C., K. C. Tzeng and Y. S. Leu. 2007. Diagnosis and identification of bacterial soft rot disease. p. 109–116. in: Proceedings of Workshop on Identification and Diagnosis of Important Plant Pathogens (6). Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Executive Yuan. (in Chinese)
- Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., C. Brochier-Armanet, J. P. Flandrois and S. Reverchon. 2020. *Dickeya poaceiphila* sp. nov., a plant-pathogenic bacterium isolated from sugar cane (*Saccharum officinarum*). Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 70: 4508–4514.
- Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., C. Jacot-des-Combes and J. Briolay. 2019. *Dickeya lacustris* sp. nov., a water-living pectinolytic bacterium isolated from lakes in France. Int. J. Syst. Evol.

Microbiol. 69: 721–726.

Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. and F. Van Gijsegem. 2021. Diversity within the *Dickeya zae* complex, identification of *Dickeya zae* and *Dickeya oryzae* members, proposal of the novel species *Dickeya parazeae* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 71: Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.005059>.

Kao, C. W., Y. F. Wu and C. H. Lin 2022. Species diversity of bacterial soft rot pathogens in vegetables from Taiwan. In Species diversity of bacterial soft rot pathogens in vegetables from Taiwan, The annual meeting of Taiwan phytopathological society, 43. (in Chinese)

Koh, Y. J., G. H. Kim, Y. S. Lee, S. H. Sohn, H. S. Koh, S. Kwon, S. Heu and J. S. Jung. 2012. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *actinidiae* subsp. nov., a new bacterial pathogen causing canker-like symptoms in yellow kiwifruit, *Actinidia chinensis*. N. Z. J. Crop Hortic. Sci. 40: 269–279.

Lee, I., Y. Ouk Kim, S. C. Park and J. Chun. 2016. OrthoANI: An improved algorithm and software for

calculating average nucleotide identity. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 66: 1100–1103.

Li, X., J. Tambong, K. X. Yuan, W. Chen, H. Xu, C. A. Lévesque and S. H. De Boer. 2018. Re-classification of *Clavibacter michiganensis* subspecies on the basis of whole-genome and multi-locus sequence analyses. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 68: 234–240.

Meier-Kolthoff, J. P., A. F. Auch, H.-P. Klenk and M. Göker. 2013. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. BMC Bioinformatics 14: 60.

Oulghazi, S., J. Pédrón, J. Cigna, Y. Y. Lau, M. Moumni, F. Van Gijsegem, K. G. Chan and D. Faure. 2019. *Dickeya undicola* sp. nov., a novel species for pectinolytic isolates from surface waters in Europe and Asia. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 69: 2440–2444.

Parkinson, N., P. DeVos, M. Pirhonen and J. Elphinstone. 2014. *Dickeya aquatica* sp. nov., isolated from waterways. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 64: 2264–2266.

Portier, P., J. Pédrón, G. Taghouti, M. Fischer-Le Saux, E. Caullireau, C.

- Bertrand, A. Laurent, K. Chawki, S. Oulgazi, M. Moumni, D. Andrivon, C. Dutrieux, D. Faure, V. Hélias and M. A. Barny. 2019. Elevation of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* to species level as *Pectobacterium odoriferum* sp. nov., proposal of *Pectobacterium brasiliense* sp. nov. and *Pectobacterium actinidiae* sp. nov., emended description of *Pectobacterium carotovorum* and description of *Pectobacterium versatile* sp. nov., isolated from streams and symptoms on diverse plants. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 69: 3207–3216.
- Samson, R., J. B. Legendre, R. Christen, M. F. Saux, W. Achouak and L. Gardan. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 55: 1415–1427.
- Schaad, N. W., J. B. Jones and W. Chun 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd ed. American Phytopathological Society. St. Paul, MN. 373 pp.
- Tian, Y., Y. Zhao, X. Yuan, J. Yi, J. Fan, Z. Xu, B. Hu, S. H. De Boer and X. Li. 2016. *Dickeya fangzhongdai* sp. nov., a plant-pathogenic bacterium isolated from pear trees (*Pyrus pyrifolia*). Int J Syst Evol Microbiol 66: 2831–2835.
- Tsai, W. A., P. R. Lin and C. J. Huang. 2019. First report of *Dickeya fangzhongdai* causing soft rot disease of Welsh onion in Taiwan. J. Plant Pathol. 101: 797–798.
- van der Wolf, J. M., E. H. Nijhuis, M. J. Kowalewska, G. S. Saddler, N. Parkinson, J. G. Elphinstone, L. Pritchard, I. K. Toth, E. Lojkowska, M. Potrykus, M. Waleron, P. de Vos, I. Cleenwerck, M. Pirhonen, L. Garland, V. Helias, J. F. Pothier, V. Pfluger, B. Duffy, L. Tsrer and S. Manulis. 2014. *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plant-pathogenic bacterium isolated from potato (*Solanum tuberosum*). Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 64: 768–

774.

- Wang, X., S. W. He, H. B. Guo, J. G. Han, K. K. Thin, J. S. Gao, Y. Wang and X. X. Zhang. 2020. *Dickeya oryzae* sp. nov., isolated from the roots of rice. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 70: 4171–4178.
- Wei, X. Y., W. L. Deng and C. C. Chu. 2021. Phylogenetic and phenotypic analyses on *Dickeya* spp. isolated from different host plants in Taiwan. J. Phytopathol. 169: 678–691.
- Zhang, Y., Q. Fan and R. Loria. 2016. A re-evaluation of the taxonomy of

phytopathogenic genera *Dickeya* and *Pectobacterium* using whole-genome sequencing data. Syst. Appl. Microbiol. 39: 252–259.

- Zhou, J., M. Hu, A. Hu, C. Li, X. Ren, M. Tao, Y. Xue, S. Chen, C. Tang, Y. Xu, L. Zhang and X. Zhou. 2022. Isolation and Genome Analysis of *Pectobacterium colocasium* sp. nov. and *Pectobacterium aroidearum*, Two New Pathogens of Taro. Frontiers in Plant Science 13.

Classification and identification technology of plant pathogenic bacteria-A case of soft rot bacteria

Chia-Hsin Tsai¹ and Jia-Rong Ku^{2,*}

¹Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC

²Bioresource Collection and Research Center, Food Industry Research and Development Institute, Hsinchu, Taiwan, ROC.

Abstract

In recent years, with the development and progress of research on plant pathogens, their classification has undergone significant changes. For example, the soft-rot bacteria that originally belonged to *Erwinia* were divided into the genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. Some of the subspecies were elevated to species and new species were published constantly. In order to meet the increasingly complex identification needs of pathogenic bacteria, in addition to traditional identification techniques, next generation sequencing, gene assembly, digital DNA-DNA hybridization (dDDH) and average nucleotide identity (ANI) can obtain reliable data to identify similar species within the same genus that has been widely used by scholars.

Key words: classification, identification, soft rot bacteria, dDDH, ANI

*Corresponding author.

E-mail: jrg.firdi@gmail.com

植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台之應用-以介殼蟲為例

陳淑佩^{1,*}

¹ 行政農業委員會農委會農業試驗所應用動物組。台灣 台中市。

摘要

隨商業貿易自由化與國際化，國外重要的檢疫有害生物隨農產品入侵的風險而升高，如果實蠅、薊馬、介殼蟲、蚜蟲、粉蟲及蟎類等，常隨苗木、接穗、種子、果實、塊根、鱗莖等傳入。農業試驗所收集國際重要檢疫有害生物標本，利用顯微影像設備，將存證標本數位化，再配合其形態等資料，逐年建置具有查詢、維護等功能的植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台。該平台實現了對常見檢疫生物資訊的綜合管理，並可依進口農產品類群、學名、中名、分布、形態特徵、生物學、寄主、輸入國家和地理分佈等條件進行快捷的查詢及進行彙整統計分析。此資料平台除提供檢疫鑑定，亦提供學術研究及農政單位施政參考。

關鍵詞: 防檢疫有害生物、農產品、資訊系統。

前言

隨商業貿易自由化與國際化，國外重要的檢疫有害生物隨農產品入侵的風險而升高，所衍生的防檢疫問題將使植物保護工作更形艱鉅。眾多的檢出有害生物紀錄中，常隨苗木、接穗、種子、果實、塊根、鱗莖等傳入的有害生物如果實蠅、薊馬、介殼蟲、蚜蟲、粉蟲及蟎類等(Wong *et al.* 2013)。以隨農產品或植株進入其他地區的介殼蟲為例，由於其體型微小、高繁殖潛能及寄主範圍廣泛之生

物特性，故在國際港口害蟲檢疫對象中，介殼蟲屬於高檢出率的害蟲類別。

對上述檢出之有害生物製成存證標本後，才可提供檢疫及研究人員進行業務之標本檢查、鑑定與比對之用。為避免珍貴的存證標本受到直接及非必要的損耗並及時提供資訊，筆者利用參與過國家型數位典藏計畫的訓練，參考國外對重要害蟲建置的網站如 CABI 及 ScaleNet 等 (<http://scalenet.info/associates/>) (Ben-Dov & Miller 2022)，以近年來輸入植物或植物產品檢測出之有害生物為主，將製

*論文聯繫人

E-mail: spchen@tai.gov.tw

作並經鑑定的存證標本，利用解剖及光學顯微鏡，配合數位相機、影像處理之軟體和設備，將存證標本數位化，再配合其分類地位、採集和寄主資料外，儘可能拍攝其特徵影像以呈現該種之形態及生態影像，並新增和掃描存檔蒐集各物種相關文獻、圖文等，以建立進口農產品檢測之有害生物資訊。

植物防檢疫有害生物數位化工作流程

植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台之影像數位化工作流程(圖 1)是參照農試所館藏標本數位化計畫(Chen & Wang 2008)建置，包括其為害生態照及形態標本照二部分，從已製作完整蟲籤資料的存證標本清點預備，逐一開始以實體顯微鏡 (Leica Z16 Apo stereomicroscope, Switzerland) 及縱深影像疊圖拍攝系統 (Leica Piezo Z-drive, Switzerland and Leica DFC 420 digital microscope cameras, Switzerland) 對實體樣本拍攝其生態形態及危害狀並將有關資料輸入電腦建檔。拍攝之影像檔及輸入之文字檔均備份後，測試程式之實用性與流暢性，修正其缺點。其細部數位化步驟，如下：

- (i) **標本整理及核對標本、查閱書籍(圖 2)**-對存證有害生物標本進行數量清查、登錄蟲籤上之物種名稱及鑑定等資料，並同時查閱標本之相關書籍或文獻資訊，以核對標本學名是否有變遷等情況。
- (ii) **挑選合適標本及進行拍照(圖 3)**-微小有害

害生物(如介殼蟲)使用光學顯微鏡配合數位單眼照相機等，以挑選合適的玻璃標本，進行形態特徵的數位化工作。存證標本依不同的送檢來源，每筆資料所包含之所有玻片標本進行拍攝工作。除此外，亦利用解剖顯微鏡、數位相機、冷光燈與翻拍架等設備，將常檢出之有害生物進行生態數位攝影。

- (iii) **標本照去背、後續影像處理(圖 4)**-對已數位攝影完成之數位影像檔進行後續處理及修正工作，如去背、調整色差及亮度...等工作，使每筆影像檔更清晰。
- (iv) **標本照命名與建檔**-利用 MS Office 之 Word & Access 等套裝軟體，進行分析整理文字資料如 Excel 建置相關基本資料的標本基本資訊、圖檔基本資訊、參考文獻等，同時對於所整理分析之文字資料，依照資料庫制定之欄位，將資訊輸入欄位並儲存，以完成每筆 metadata。
- (v) **校對、再校對後上傳網頁及資料備份**-利用 PC 並參考有害生物分類學資料以進行校對的工作，待正確無誤之後上傳至資料庫，供使用者利用。
- (vi) **(查詢系統網頁呈現及維護(圖 5))**-將影像數位資料及蒐集之文獻等細分三大主題「資料查詢」：可以讓使用者由各種角度如「申請書號碼」、「進口物輸出國」、「有害生物中名」、「有害生物學名」等相關進口物品驗出之有害生物資訊、生態照及玻片，並可進一步利用「生物形態細部特

徵互動網頁」以作為線上鑑定參考用。

「批次上傳」為 Excel 整理資訊批次上傳至後端資料庫。「維護作業」讓使用者可以單筆維護錯誤資料。

植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台簡介

植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台的建置參照 Chen & Wu (2012)再精進其內容，採用 Windows 2003+ Apache+ MySQL+ PHP 系統，其特色為所需成本低(Apache, MySQL 及 PHP 皆為免費軟體)，安裝容易，系統穩定，在相關功能的發展上也逐漸能與付費軟體並駕齊驅。PHP 軟體可跨不同平台(Windows, Linux, Unix, IIS, Apache)及處理動態網頁；資料庫系統 Mysql 可跨平台支援、彈性的安全機制、支援 PHP 快速的存取資料庫資料。

本平台具權限管制，分「專家群」、「分區機關」及「管理者」三種權限。「專家群」：依專屬設定的帳號，只能維護專家自己新增資料。「分區機關」：依各「防檢機關」為單位顯示資料。「管理者」：能維護所有資料。以六大主題「平台資訊」、「蟲相分析」、「送檢資料」、「害蟲簡介」、「資料搜尋」、「相關網站」呈現，試分述如下：

(i) 「平台資訊」單元：簡介本平台之緣由-檢出之有害生物製成存證標本後，可以提供檢疫及研究人員進行檢查、鑑定與比

對之用。

(ii) 「蟲相分析」單元：透過不同需求的排序設定篩選，讓使用者進行本資料庫數據分析，也可自行定義篩選排序下載資料存檔，並供統計各單位送檢數量或各檢出國被害農作物種及其蟲害，且檢出生物是否為台灣新紀錄。

(iii) 「送檢資料」單元：依「權限設定」顯示，為方便使用者，可自下拉選單中【送檢單位、檢出生物、輸出國家、送檢貨物、科別、總科、送檢期間】的欄位中，選定關鍵值，亦可不輸入任何關鍵值，查詢欄位空白，則可得到所有已設定主鍵排序之結果。「管理者」可得全部顯示資料、「專家群」僅顯示個人鑑定明細資料) 及「分區機關」只顯示所屬機關之鑑定明細資料

(iv) 「害蟲簡介」單元：以介殼蟲總科為主，提供介殼蟲的分類地位、寄主植物、地理分布、曾檢出之產品與輸出國、鑑別特徵、生態及危害徵狀、參考文獻等資料(Wong *et al.* 2013)，並透過「鑑別特徵」互動式網頁，利用「彈出式視窗」，顯示鑑別特徵放大圖，可供使用者準確辨識介殼蟲(圖 6)。

(v) 「資料搜尋」單元：只要鍵入關鍵字即能自動檢索符合條件資料列表。

(vi) 「相關網站」單元：連結植物防檢疫有害生物相關網站，提供介殼蟲相關的電子書與網站(如重要防檢疫介殼蟲類害蟲

簡介、臺灣常見介殼蟲圖鑑、中國介殼蟲總科名錄及 ScaleNet (<http://scalenet.info/associates/>) (Ben-Dov & Miller 2022)等，提供使用者更多詳盡資訊。

植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台，迄今已共建置 9,569 筆(介殼蟲 8,505 筆、鞘翅目 769 筆、其他 295 筆)來自於 56 個國家 869 種農產品檢出之有害生物存證標本及相關生態照，有關於介殼蟲的部分已高達 8,505 筆。日後以植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台為基石，持續累積資料並擴及至其他類群之害蟲應用，以供研究人員查詢比對之用。

結論

藉由植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台的建置及實際操作，對近年來檢疫單位由進口農產品常檢測到的有害生物之數位存證標本及相關資料庫除可提供快速查詢功能外，並經由線上互動式鑑定特徵的影像，透過局部放大及消除特徵外之雜質，將重要分類特徵放大，或將其與相近種類之影像比對，比較其差異性，提供使用者(如植物保護相關人員、檢疫單位檢疫人員或是植醫體系等)更多詳盡資訊，供線上使用，以達及時攔截外來重要害蟲，減少外來害蟲入侵風險並兼具訓練教育之目的。另一方面，平台在建置時，即多方考慮其通欄位及後端平台的維護工作，日後可以免費提供其他分類專家使用，使分類工作得以傳承進行，並促進資訊流通，發揮更大

的效益。

參考文獻

- Chen, S. P. and G. L. Wang. 2008.** Taiwan Agricultural Research Institute Insect and Mite Specimens Digital Archives Project. Proceedings of the Symposium on Management and Applications for the Insect and Mite Collection, p. 201–208. (in Chinese)
- Chen, S. P. and W. J. Wu. 2012.** Plant quarantine pest query system. 2012 AFITA (Asian Federation for Information Technology in Agriculture) 8th International Conference. (English)
- Wong, J. Y., S. P. Chen and W. J. Wu. 2013.** Guidebook to Scale Insects of Imported Agricultural Plants Products in Taiwan. Taiwan Agric. Res. Inst., Spec. Publ. No.178. 192pp. (in Chinese)
- Ben-Dov, Y. and D. R. Miller. 2022.** ScaleNet: a database of the scale insects of the World. (<http://www.sel.barc.usda.gov/scale net/scalenet.htm>).

「植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台」流程

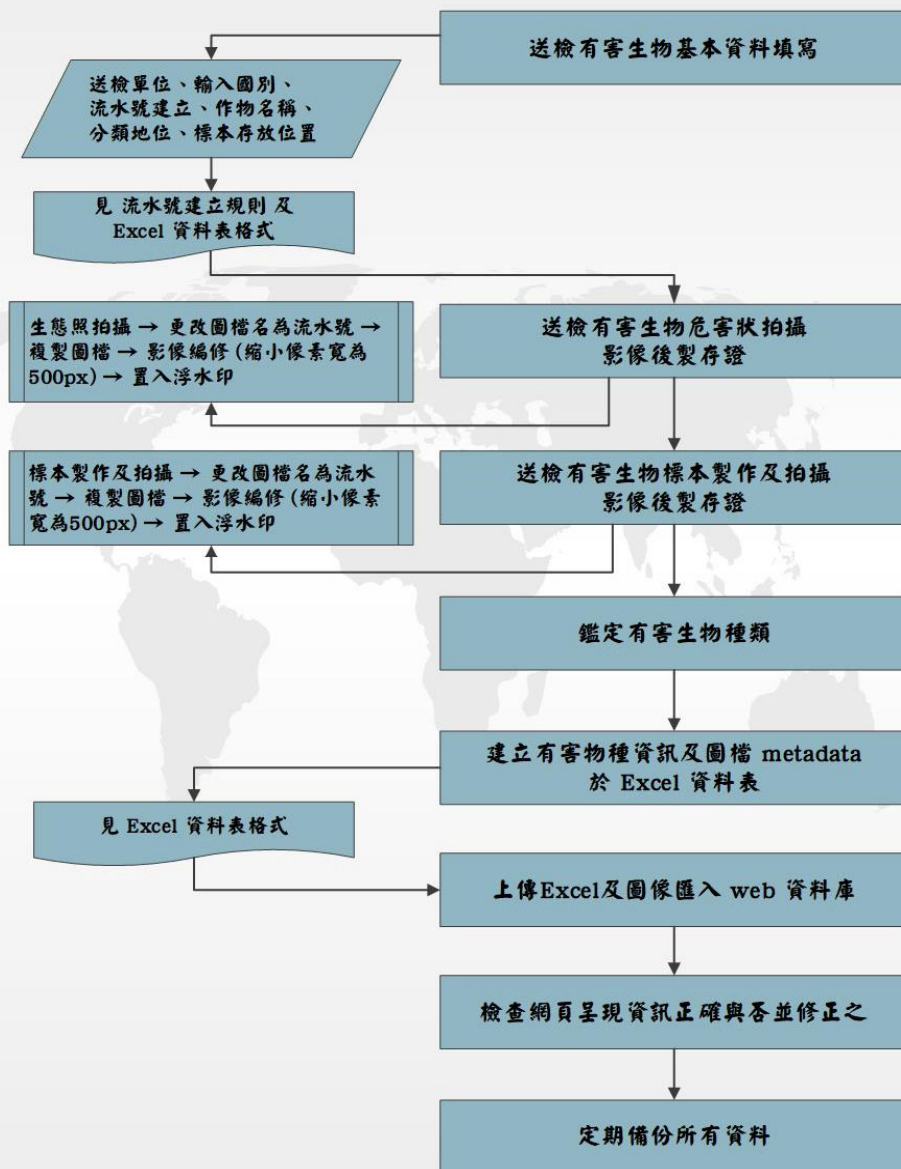


圖 1. 植物防檢疫有害生物鑑定查詢平台數位化流程。

Fig. 1. Digital process of plant inspection and epidemic prevention pest identification inquiry platform.



圖 2a. 標本整理製作及核對標本。

Fig. 2a. Specimen organization, creation and checking.



圖 2b. 數量清查、登錄蟲籤上之物種名稱、採集及鑑定資料。

Fig. 2b. Inventory the specimen and register the species name, collection, and identification data indicated on the labels.



圖 3a. 光學顯微鏡及數位相機拍攝玻片昆蟲。

Fig. 3a. Taking a photograph of slide specimen using optical microscope and digital camera.



圖 3b. 數位相機、冷光燈與翻拍架等拍攝標本及採集、鑑定等採蟲籤資料

Fig. 3b. Taking a photo of the specimen using the digital camera, cold-cathode lamp and copy.



圖 4a. 昆蟲玻片標本數位化尚未修圖前

Fig. 4a. The digitized insect specimen slide image before editing.

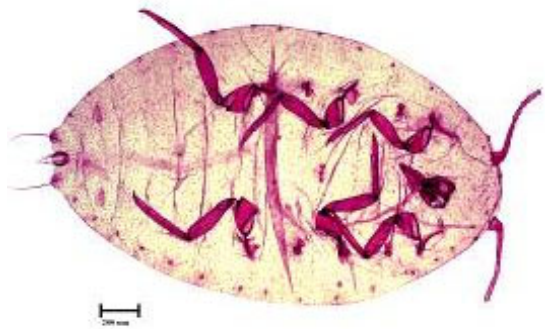


圖 4b. 昆蟲玻片標本數位化經去背、調整色差及亮度修圖後呈現圖檔

Fig. 4b. The digitized insect specimen slide image after background removal, chromatic adjustment and brightness adjustment.



圖 5a. 資料篩選，以關鍵字查詢資料

Fig. 5a. Data filtering. Data searching using keywords.



圖 5b. 點按「小圖」，呈現大圖

Fig. 5b. Clicking on the "small icon" to display a larger image.

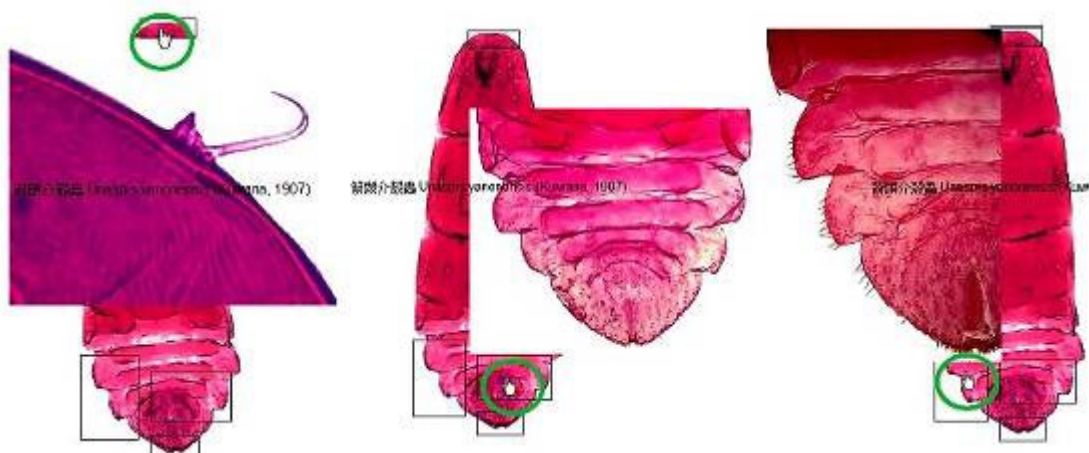


圖 6. 生物形態細部特徵互動網頁 (滑鼠移至框線部位即會出現該部位之大圖)

Fig. 6. The morphological detail interaction page. Moving the cursor over the rectangle frame to display a larger image.

Plant Epidemic and quarantine application of pest query system- Scale insects

Shu-Pei Chen^{1,*}

¹Applied Zoology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung city, Taiwan, ROC.

Abstract

As trade liberalization and internationalization progress, the risk of Taiwan being invaded by major foreign quarantine pests hiding in imported agricultural products has increased. The pests, such as fruit fly pests, thrips, scale insects, aphids, whiteflies, and mites often immigrate through the media of seedlings, scions, seeds, fruits, tubers and bulbs. Based on the pests detected in the plants or plant products imported in recent years, Taiwan Agricultural Research Institute (TARI) built a platform that uses microscopic imaging devices to digitize voucher specimens. By further incorporating the classification, collection and host data, we successfully established the Epidemic and quarantine pest query platform with query and maintenance functions. Such a platform realized the integrated management of common quarantine pest information, and it can provide fast query and consolidated statistical analysis services with regard to agricultural product groups, scientific names, middle names, distribution, morphology, biology, hosts, and importing countries, and geographical distribution. In addition to the quarantine identification, the information system is available for inquiries about the academic research and administration of agricultural authorities.

Key words: Epidemic and quarantine pest, Agricultural products, Query platform

*Corresponding author.

E-mail: spchen@tari.gov.tw

影像自動辨識技術在檢防疫介殼蟲害鑑定之應用

郭子敬¹ 謝方智¹ 陳淑佩² 郭彥甫^{1,*}

¹國立台灣大學生物機電工程學系。台灣 台北市。

²行政農業委員會農委會農業試驗所應用動物組。台灣 台中市。

摘要

介殼蟲為台灣水果產業上的害蟲，近年更是造成我國重大的出口損失。傳統上果物表皮是否有介殼蟲係用人工肉眼的方式進行辨識，然而人工檢查耗時費力，且出口量龐大，無法逐顆仔細檢測，導致近年在他國海關檢疫出介殼蟲而導致禁止進口的案例發生，對於大量依賴出口的台灣水果經濟而言，實屬重大危機。為了有效地避免介殼蟲對於水果的風味、賣像以及出口造成影響，我們採取自動化方式，利用機器視覺與深度學習的方式，來達到快速、省力的輔助檢查手段。本研究利用物件偵測卷積神經網路模型——YOLOv5 進行介殼蟲辨識。我們建置三個物件偵測模型分別用以檢測鳳梨、釋迦與檸檬三種果物表面的介殼蟲，以期能幫助實現國內果物出口前的介殼蟲害自動檢測。本研究透過農試所研究人員協助蒐集影像進行模型偵測。經測試得到鳳梨水果之模型準確率 (mAP@0.5) 粉介殼蟲為 0.558 和褐圓盾介殼蟲為 0.371、釋迦模型準確率粉介殼蟲為 0.8001、檸檬模型準確率黑片圓盾介殼蟲為 0.7956。可以看到目前在處理介殼蟲害上釋迦和檸檬的模型已經可以有效率地偵測介殼蟲，但是鳳梨因為表皮紋路複雜且有縫隙不利於蟲體辨識，因此在準確率上的表現不如另外兩種果物。這個研究提出的方法可以提升檢測的效率與品質，避免因人工辨識耗時費力，無法逐一檢查的窘境，並提供介殼蟲出口檢測適當的輔助，以維護台灣農產品出口的品質。

關鍵詞：介殼蟲、台灣介殼蟲害、機器視覺、深度學習

*論文聯繫人

E-mail: ykuo@ntu.edu.tw

前言

介殼蟲為一種在植物以及果實上常見的害蟲，此類害蟲吸食植物汁液導致植物生長不良、葉片枯萎掉落，嚴重時導致植物死亡；而對於果實，介殼蟲會使果實黃化或紅化，而且還會減少果實糖分並影響外觀，嚴重時更會導致病害傳播 (Chen *et al.* 2003)，造成經濟上的重大損失。近年來介殼蟲害導致國內果物出口屢遭限制，使得介殼蟲的防治與出口前的檢測成為不可懈怠的議題。

根據鳳梨、芒果及紅龍果良好農業規範 (行政院農委會 2021) 中的流程圖，害蟲檢疫主要集中於收成時期，以人工肉眼檢查收成果實的蟲害情形，以達成出口前的蟲害防治。因為水果貨量龐大，人工處理速度緩慢效率不佳，無法逐一檢查，導致近期仍在出口時發現有介殼蟲害。因此我們需要採取更有效的方式在出口前挑檢出仍有殘存蟲害的果品，以維持出口貨物品質與名譽。

本研究使用 YOLOv5 模型來進行介殼蟲影像辨識，目前採用三種果品進行模型訓練，分別為鳳梨、釋迦、檸檬。由於已搜集資料數量不平衡，本研究將會將三種果品的介殼蟲影像辨識模型個別分開訓練。模型在結果上只會將介殼蟲位置定位標示，因為影像為使用智慧型手機進行搜集，在

解析度不足以及介殼蟲的品種繁多的情況下，無法準確辨識出介殼蟲品種和位置。

材料與方法

1. 影像搜集與標記

水果及介殼蟲影像來源主要為田間以及集貨場採樣，並利用智慧型手機拍攝影像。手機設備解析度為 4032x2268 個像素，光線採取自然光，並以白紙或白牆為背景。

目前使用帶有介殼蟲的鳳梨、釋迦與檸檬三種水果的影像進行訓練，並使用 roboflow (USA 2020) 進行介殼蟲標記的作業。鳳梨上介殼蟲有數種，基於手機影像解析度對介殼蟲特徵辨別上的限制，我們僅將鳳梨上介殼蟲分為兩種類別：第一種為粉介殼蟲 (mealybug)；第二種為褐圓盾介殼蟲 (*Chrysomphalus aonidum*)。釋迦上的多種介殼蟲也因為特徵不明確，因此在影像辨識上皆歸為粉介殼蟲。檸檬上的介殼蟲標記為黑片盾介殼蟲 (*Parlatoria ziziphi*)。

2. 影像處理與資料強化

訓練及辨識過程中，水果影像將被縮放成 1280x1280 個像素。而為了要讓模型能應對更廣泛的情形，以及增加訓練時的資料量，我們使用圖片翻轉、裁切、拼接的方式進行資料增強 (data

augmentation)，以增加影像多樣性以 (表 1.) 所示。
及數量。目前用於訓練的照片如下表

表 1. 影像張數與分配
Table 1. The distribution and the number of images.

Fruits	The number of images	The number of augmented images	The number of training images	The number of validation images
Pineapple	1247	3015	2739	276
Sweet apple	247	1867	1593	274
Lemon	124	281	244	37

3.模型介紹

YOLOv5 作為一個物件偵測模型，其功能為在圖片中偵測並辨識物件的位置、種類。透過將圖片切割成不重疊網格並由單一網格偵測欲辨識物件，其物件偵測的速度及準確度表現佳，使他至今成為許多機器視覺領域中的應用對象。YOLOv5 模型的架構可見圖 1.，主要可分成四個部分討論，依序為模型的輸入端 (Input)、主幹(backbone)、頸部(neck)以及輸出端(head)。輸入端沿用了 YOLOv4 的馬賽克資料增強方法 (mosaic data augmentation)，藉由裁剪及拼貼原始影像而增加訓練資料的複雜度以及豐富度，進而達成更好的模型訓練效果。。主幹功用為提取圖片特徵，YOLOv5 採用了

CSPNet (cross stage partial network) 作為參考架構，使模型達成輕量化同時又保證準確率。頸部將主幹提取的圖片特徵進行處理，以利輸出端進行預測，YOLOv5 採用 FPN+PAN 結構，將特徵圖進行上採樣提取定位特徵及下採樣提取語義特徵。而輸出端採用速度及精度較佳的 CIOU_Loss 作為 Bouding Box 的損失函數 (loss function)，並加入了非極大值抑制 (non-maximum suppression, NMS)，提升了模型在重疊物件上的偵測表現。

YOLOv5 模型有以下優點：一、便於一般用戶使用，可以輕易地用其訓練自己的資料集；二、因為圖像切割辨識的關係，對於小物件有較高的辨識率；三、模型輕

便，可以被佈署在許多系統中。因此本研究決定採用 YOLOv5 作為判釋系統所使用之模型。

結果與討論

1. 鳳梨模型

根據測試集測試結果，粉介殼蟲的判識準確率 (mAP@0.5) 為 0.558，褐圓盾介殼蟲的判識準確率為 0.371。兩者準確率的落差可以歸因於標記的數量，訓練影像中粉介殼蟲的標記高達 10790 個，但是褐圓盾介殼蟲卻只有 1734 個。由於 YOLOv5 在訓練過程中，標記的數量會顯著影響到訓練結果，因此 YOLOv5 在不平衡資料下學習成果無法達到期望。

粉介殼蟲當前準確率只有 0.558，比較基準真相 (ground truth) 與預測結果 (prediction) (圖 2.(a), (b))，可以發現模型對於顏色和周圍表皮上的蠟顏色相近 (圖 2.(b)黃色方框內)。此外過小的介殼蟲，亦會有誤判的情況發生。在影像解析度不足的情況下，介殼蟲和周圍表皮上的蠟顏色差異過小，標記時就會產生困難，導致無法準確辨識目標。褐圓盾介殼蟲的準確率低落除了本身標記數量不足以外，還與褐圓盾介殼蟲常出現的位置有關。褐圓盾介殼蟲較常出現於鳳梨的間隙中，因此在影像上皆處於較為模糊、特徵不明顯的狀態。這些因素都會導致模型在訓練時難以提升準確率。

鳳梨模型最終得到的訓練時物件損失值 (training object loss) 為 0.02585，而驗證時物件損失值為 (validation object loss) 為 0.06143，由圖 3.(a)可以推斷模型有過擬合 (overfitting) 發生。

2. 釋迦模型

釋迦模型欲辨識的介殼蟲類別為單一種，而其辨識準確率 (mAP@0.5) 為 0.8001，訓練中的介殼蟲標記數量為 3807 個。雖然數量並無鳳梨上的粉介殼蟲多，但準確率的表現較鳳梨優異。兩者的差異推測為背景複雜度造成，因為鳳梨表皮上有較多的蠟和介殼蟲相似，而釋迦的表皮較乾淨，因此雖標記數量較少，釋迦卻能有較高的準確率。

比較基準真相和預測結果 (圖 2.(c), (d))，可以看到在圖中收集到的基準真相中，部分標記框中是無法觀測到明顯蟲體的，加上影像會進行壓縮後才進行訓練，因此物件過小不利於模型偵測。

釋迦模型最終的訓練損失值為 0.006451，而驗證損失值為 0.01846，由圖 3.(b)可以看到模型有過擬合的情形。

3. 檸檬模型

檸檬模型欲辨識的介殼蟲類別為單一種，其辨識準確率 (mAP@0.5) 為 0.7956，訓練資料中的介殼蟲標記數量為 6922 個。檸檬準確率和釋迦相近，推測原因為其影像背景複雜度比較高，因此雖有

較多的標記，卻有和檸檬相近的學習結果。而檸檬的表皮複雜度低於鳳梨，因此比較鳳梨上粉介殼蟲和檸檬上介殼蟲的辨識準確率，檸檬仍較高。

比較基準真相和預測結果（圖 2.(e), (f)），可以發現檸檬表皮介殼蟲預測上缺漏的蟲體屬於以下兩種情形：第一、蟲體重疊聚集，導致形狀呈不規則狀（圖 2.(f) 淺綠色方框）而非常見的橢圓狀，因此在預測上產生困難；第二、蟲體過小，與檸檬上的斑點過於類似（圖 2.(f) 紅色方框），導致電腦誤判。

檸檬模型最終的訓練損失值為 0.1064 以及驗證損失值為 0.1105，由圖 3.(c) 可以看出兩者曲線吻合，推斷模型的學習狀況良好。

結論

這項研究中，我們使用 YOLOv5 進行介殼蟲影像偵測，我們訓練三個獨立模型以辨識鳳梨、釋迦以及檸檬三種水果表面的介殼蟲，其中鳳梨的模型準確率（mAP@0.5）為粉介殼蟲 0.558 和褐圓盾介殼蟲 0.371，釋迦對粉介殼蟲的模型準確率 0.8001，檸檬對黑片盾介殼蟲為 0.7956。目前釋迦和檸檬的準確度，已可作為人工輔助；鳳梨則因為表皮的紋路與縫隙，使其準確度不足，尚無法作為輔助。若有機會，此研究未來可以在果物在包裝出口前，輔助人工辨識，提升介殼蟲辨識

的效率與良率，並維護台灣水果在出口上的品質與名譽。

參考文獻

Chen, S. P., J. Y., Wong, and W. J., Wu.

2003. Proceedings of Workshop on Identification and Diagnosis of Important Insect Pest (3). Brief Introduction of Scale Insects of Important pest prevention. (in Chinese) from [https://www.baphiq.gov.tw/userfiles/01\(6\).pdf](https://www.baphiq.gov.tw/userfiles/01(6).pdf)

COA. 2021. Pineapple, Mango, and Pitaya TGAP PLUS. (in Chinese) from <https://taft.coa.gov.tw/public/data/13121892671.pdf>

Hsieh, K. Y., C. K., Ho, and Y. F., Kuo. 2018. Detecting and Counting Soybean Aphids Using Convolutional Neural Network. 2018 ASABE Annual International Meeting, July 29–August 1, 2018.

Chen, J. W., W. J., Lin, H. J., Cheng, C. L., Hung, C. Y., Lin, and S. P., Chen. 2021. A Smartphone-Based Application for Scale Pest Detection Using Multiple-Object Detection Methods.

- Redmon, J., S. Divvala, R. Girshick, and A. Farhadi. 2016.** You only look once: Unified, real-time object detection. In Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition (pp. 779–788).
- Redmon, J. and A. Farhadi. 2017.** YOLO9000: better, faster, stronger. In Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition (pp. 7263–7271).
- Redmon, J. and A. Farhadi. 2018.** Yolov3: An incremental improvement. arXiv preprint arXiv:1804.02767.
- Bochkovskiy, A., C. Y. Wang, and H. Y. M. Liao. 2020.** Yolov4: Optimal speed and accuracy of object detection. arXiv preprint arXiv:2004.10934.
- Xu, Renjie, Haifeng Lin, Kangjie Lu, Lin Cao, and Yunfei Liu. 2021.** A Forest Fire Detection System Based on Ensemble Learning. *Forests*. 12. 217. 10.3390/f12020217. from https://www.researchgate.net/figure/The-network-architecture-of-Yolov5-It-consists-of-three-parts-1-Backbone-CSPDarknet_fig1_349299852
- Takimoto, H., Y. Sato, A. J. Nagano, K. K. Shimizu, and A. Kanagawa. 2021.** Using a two-stage convolutional neural network to rapidly identify tiny herbivorous beetles in the field. *Ecological Informatics*, 66, p.101466.

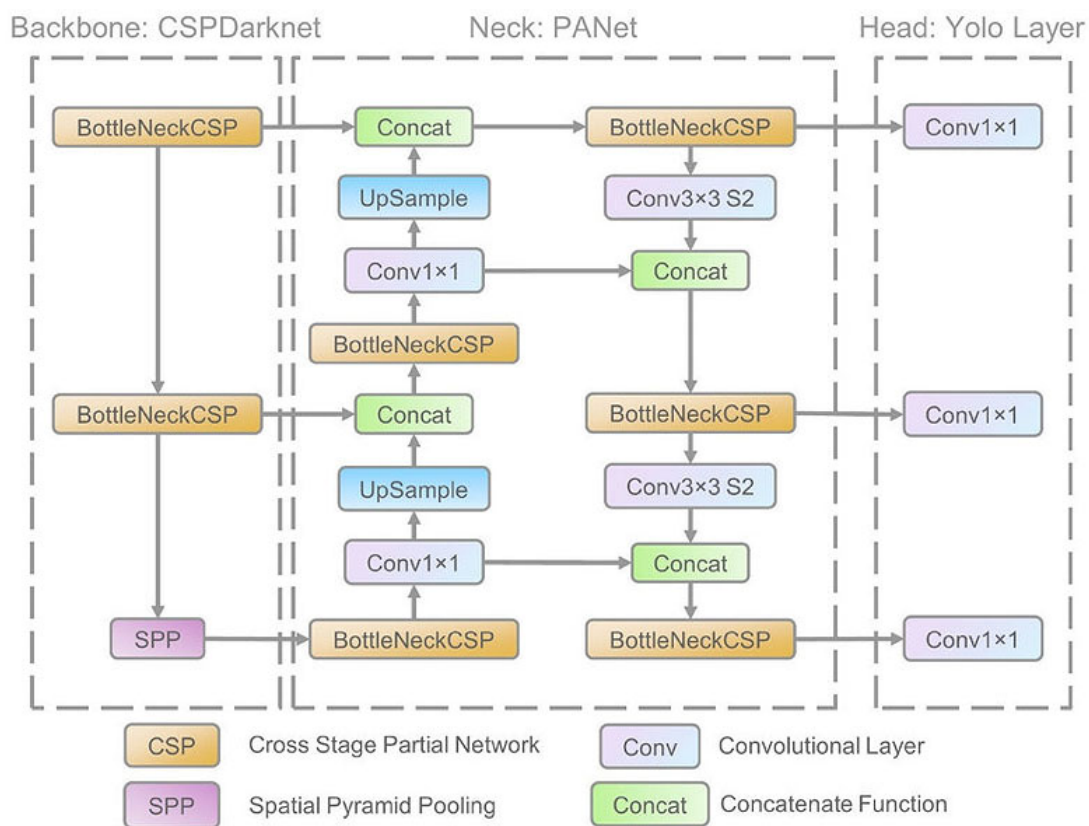


圖 1. YOLOv5 結構圖 (Xu *et al.* 2021) 。

Fig. 1. the YOLOv5' s structure.

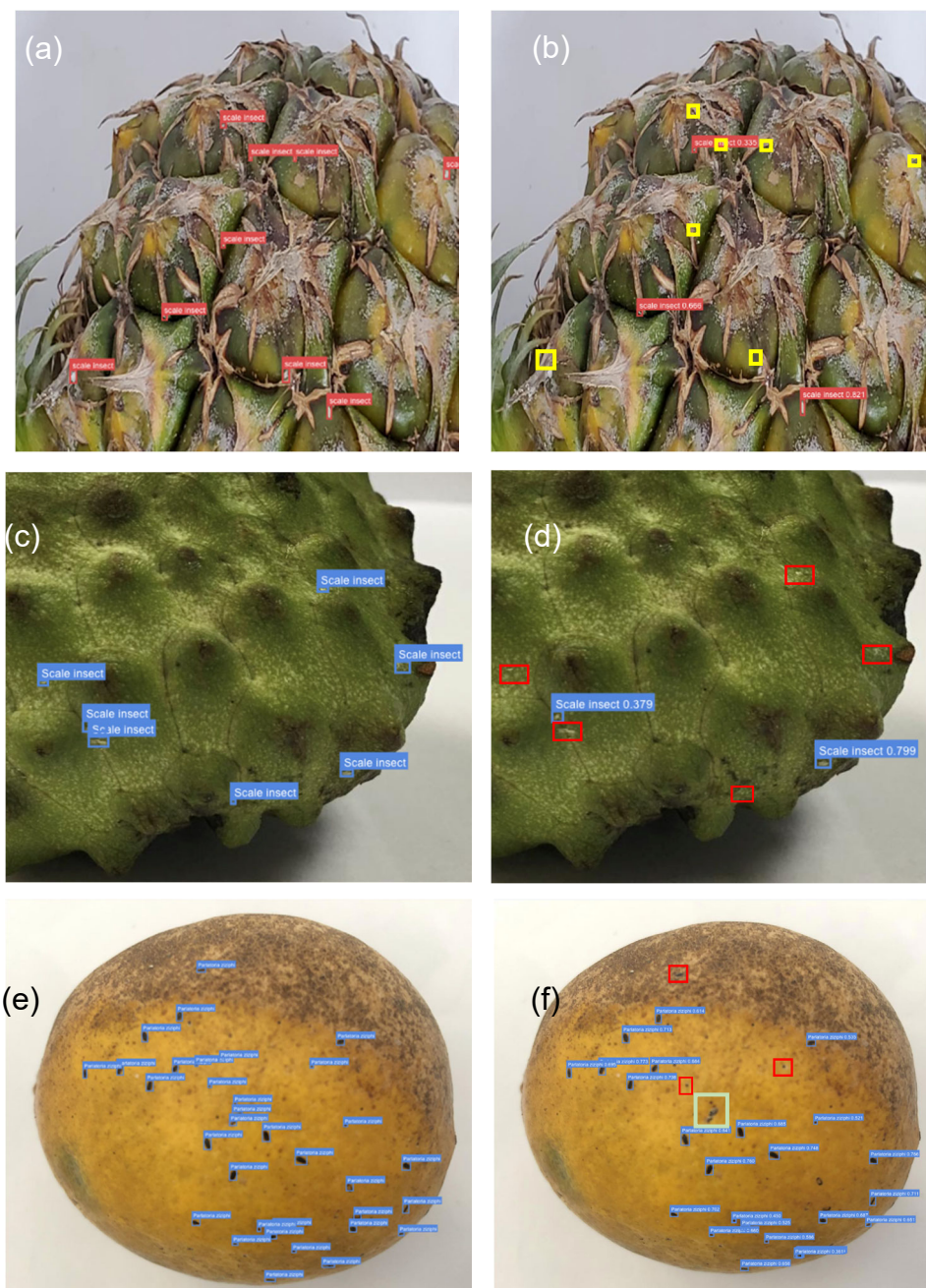


圖 2. (a) 鳳梨基準真相、(b) 鳳梨預測結果、(c) 釋迦基準真相、(d) 釋迦預測結、
(e) 檸檬基準真相、(f) 檸檬預測結果。

Fig. 2. (a) the pineapple' s ground truth, (b) the pineapple' s prediction, (c) the sweet apple' s ground truth, (d) the sweet apple' s prediction, (e) the lemon' s ground truth, (f) the lemon' s prediction.

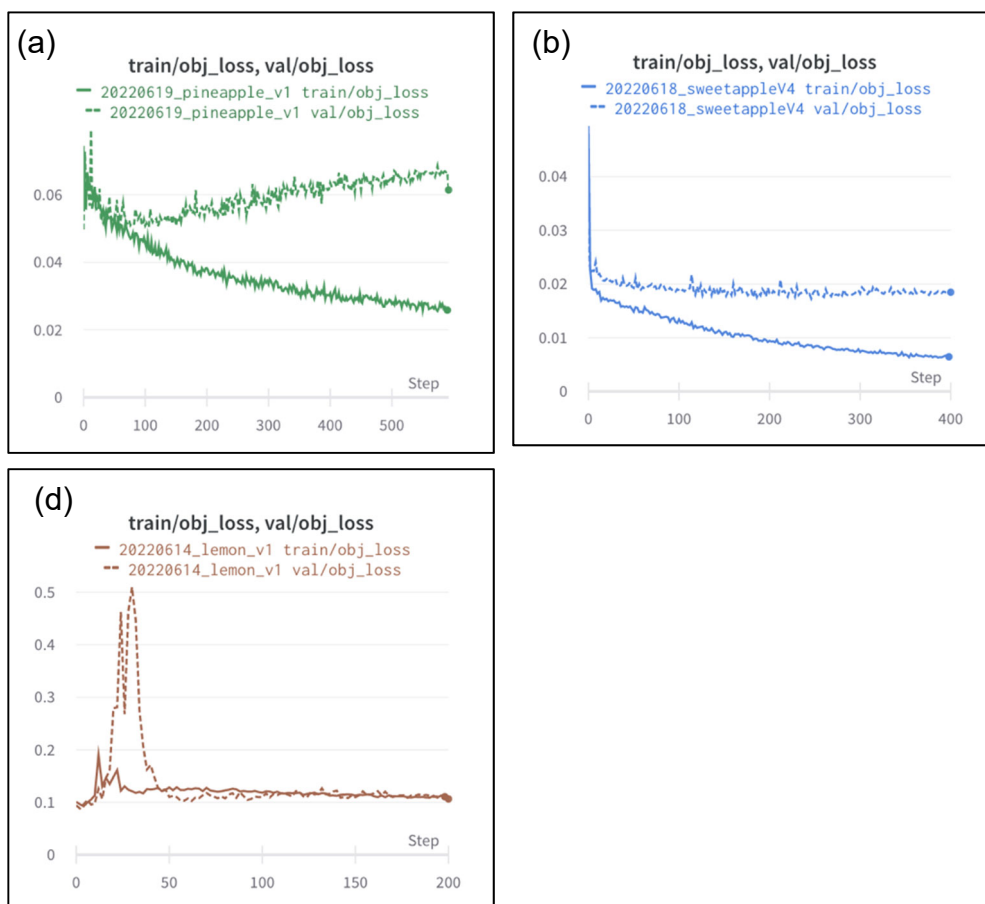


圖 3. (a) 鳳梨損失函數圖、(b) 釋迦損失函數圖、(c) 檸檬損失函數圖

Fig. 3. (a) pineapple loss function figure, (b) sweet apple loss function figure,
(c) lemon loss function figure

Application of Automatic Scale Insect Detections on Insect Quarantine

Tzu-Ching Kuo¹, Fang-Chih Heish¹, Shu-Peu Chen², and Yan-Fu Kuo^{1,*}

¹National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC.

²Applied Zoology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

Abstract

Scale insects are pest in Taiwan's fruit industry. Recently, they have caused great export losses to our country. Traditionally, whether scale insects existing on fruit peels are inspected by naked eye. However, manual inspection is time-consuming and laborious, and due to the immense amount of export, it is impossible to inspect scale insects thoroughly. In recent years, customs of other countries still have quarantined scale insects on fruits. It is a serious crisis for Taiwan's fruit economy which heavily relies on exports. In order to effectively avoid the impact of flavor, appearance, and export of fruits, we decided to adopt automatic methods, utilizing machine vision and machine deep learning to achieve rapid and labor-saving auxiliary detection methods. This study uses object detection convolutional neural network, YOLOv5, to identify scale insects. To accomplish automatic detection before exporting fruits, we constructed three object detection models to detect scale insects on the peels of pineapple, sweet apples, and lemons. In this research, the expert in Taiwan Agricultural Research Institute Council of Agriculture assisted in image collection for model detection. After testing, the model accuracy(mAP@0.5) of pineapple was 0.558 for scale insect and 0.371 for *Chrysomphalus aonidum*, the model accuracy of sweet apple was 0.8001 for scale insects, the model accuracy of lemons was 0.7956 for *Parlatoria ziziphi*. It can be seen that on detecting scale insects, the sweet apple and lemon models are able to detect

*Corresponding author.

E-mail: ykuo@ntu.edu.tw

scale insects effectively, but the pineapple model are not as accurate as the other two due to the complex peel texture and seams which are inconducive for pest identification. The method proposed in this study can improve the efficiency and quality of inspection, and provide appropriate assistance of pest quarantine to maintain the quality of Taiwan' s produce export.

Key words: Scale insect, Scale pest in Taiwan, Machine vision, Deep learning

植物及環境細菌之鑑定與保存

古家榮¹ 蔡佳欣^{2,*}

¹財團法人食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心。台灣 新竹市。

²行政農業委員會農委會農業試驗所植物病組。台灣 台中市。

摘要

微生物鑑定的技術日新月異，從表現型(phenotype)、化學型(chemical type)和基因型(genotype)·統稱的多相分類學(polyphasic taxonomy)·近年更加入培養體學(culturomics)、蛋白質體學(proteomics)及基因體學(genomics)三者必備的年代。分類學家不斷的精進鑑定技術，期望能解決微小生物世界複雜的分類問題。幾乎每個研究人員都希望能夠快速、高通量的得到分析結果，以便於處理邊境檢疫、國內防疫的迫切需求。

關鍵詞：細菌鑑定、保存、16S rRNA 基因序列、MALDI-TOF MS、全基因體定序

前言

只要是生物，就常常將它們歸類成有益及有害，通常這都是以人類的角度作歸群。此會議討論的主題為作物有害生物分類鑑定，探討植物病蟲害的根源進而對檢、防疫進行有效管理。筆者所處的工作環境，較常接觸非病原性細菌，在此就以有益生物(細菌)為例，介紹現今細菌方面的鑑定與保存。益生菌(probiotics)，泛指有益生命的菌皆可稱之。地球上生命的物體涵括

動物及植物，但這個名詞在動物尤其是人類生活及食材搭配已廣為被接受，使用的歷史也近一個世紀之久，一般講益生菌常常就是專指對人或動物直接作關聯性。以植物的角度來看，查詢農委會網站，微生物肥料的定義可算是益生菌的一環，對植物及環境都是有善的一種材料。網站列出「鑑定為安全微生物肥料菌種」，8種細菌、真菌及酵母菌各4種。依比例來看，細菌類佔50%。另查詢農糧署網站，列出國產微生物肥料推薦的品牌(111年6月15日

*論文聯繫人

E-mail: tsaich@tari.gov.tw

更新)，除了一株酵母菌 (*Candida guilliermondii*) 外，清一色使用的菌種皆為芽孢桿菌屬內的菌 (*Bacillus* sp.)。於人類食材利用方面，查詢食藥署「可供食品使用原料彙整一覽表」，111 年 6 月 21 日修正為「食品原料整合查詢平臺」，被列為可使用的原料菌種(111 種)。細菌類佔 66.7%，其中很大部份為乳酸菌，少部份的醋酸菌、納豆菌等。列表中的學名，很多還是沿用舊名(俗名)，例如植物乳酸桿菌 (*Lactobacillus plantarum*) 依新的研究證據，已更動至新的屬 (*Lactiplantibacillus*)。建議可將學名進行新舊名並列，讓大眾一目了然。以食品所的觀點搭配植物防檢疫的角度往後看，我們所用的食材從農場到餐桌過程中，其衛生安全及風險控管最關鍵的焦點在於產地、原料是否受到污染，這也是防疫最重要的起點。農場算是一切的源頭，撇除非生物性因子對植物造成的災害(風災、水害、乾旱、寒害、肥傷及藥害等)，另一個系統性、無法以肉眼辨識的生物性因子就是微生物。植物受病菌感染，有些會產生病徵，此時就有賴於植病研究者及微生物分類學家進行鑑定，了解病原菌後才能對症治療或預防。

細菌分類鑑定方法

最早的微生物鑑定者，起源於發明顯微鏡的雷文霍克。他開啟微小世界五花八門多

采多姿的年代。隨時間的進展，越來越多研究人員加入微小世界的探索、辨識行列；單靠形態、文字描述，漸漸地無法區分物種間的歧異度。物種多樣性及研發技術的精進，試著將細菌關在有氧、缺氧的環境、不同酸鹼值、不同碳水化合物利用、產生酵素的種類、是否會產氣與否...等種種特徵，加以分門別類，為的就是要將細菌(微生物)加以鑑定。以上的特徵，也就是表現型(pheotype)的試驗及觀察，首先提出快速偵測表現型反應的當推 BioMérieux 公司的 API 鑑定系統。這系統將複雜的生化試驗整合至套裝試驗組，例如 API 50 CHB、API 50 CHL、API 20 NE...等，因為入門的成本低，廣為學、研、業界在細菌入門鑑定所採納。因為人們對時效的要求，此系統演進出另一套自動化機型，也就是 Vitek 2 compact 系統，只要將欲檢測之菌液，依照資料庫內建議的濃度進行調配，例如 0.5 McFarland 或 2 McFarland，再搭配 BioMérieux 公司的卡片，置於機器整合之恆溫箱，即可自行吸取至卡片內。快的話，人體腸內菌在 3–6 小時即可分析出結果。但缺點就是資料庫的菌株數量少，主要只針對細菌和少部份酵母菌，合計將近 700 個種。另一套系統為半自動化系統，BiOLOG。使用前也需利用濁度計調配指引建議的濃度再將菌液灌注到 96 孔盤中，置於合適的生長溫度及時間，試驗盤再利用分光光度計及系統內的資料庫比對分析。

於 BiOLOG 網站中列出此系統可快速、精確地鑑定超過 2900 個好氧、厭氧細菌、酵母菌及真菌物種。

隨著培養條件的不同，某些細菌容易受到影響而使得表現於外的特徵往往會有所差異，這也造就了菌株層次的討論。不同的研究學派對於細菌的種數有著不同的觀點，多虧有總體基因體學 (metagenomics) 的論點，讓我們了解目前可培養的細菌只有 1%，還有 99% 的細菌是無法培養馴化的。利用此技術可以直接從環境中取得所需的序列片段 (Handelsman 2004)，不需經過分離培養。2005 年次世代定序儀的問世，2008 年也開啟了人體微生物組計畫 (human microbiome project)，導引出各行各業微生物組 (microbiome) 及各種體學的蓬勃發展。之所以被稱為次世代定序，是不同於第二代的 Sanger 化學法之故 (Besser *et al.* 2018)。隨著技術不斷的精進，快速與高通量已成為現今儀器開發商需具備的最低門檻。檢測的時程往往都被要求要能夠縮短至少一半以上。

各個菌種在分類鑑定時期，都有研究人員整理列出最低要求；以產胞好氧細菌為例 (Logan *et al.* 2009)，在對菌種進行發表描述時，必需做的項目為何？舉例來說，像是顯微構造、巨觀形態、生理生化試驗、化學特徵 (脂肪酸組成、細胞壁成份分析)、核酸研究 (16S rRNA 基因序列需大於

1400 核苷酸；需有親緣演化分析，這個基因片段已是原核生物鑑定時的第一步準則) 與相近菌種的 DNA-DNA 相似性分析等。同時會列出建議要分析的項目，例如鞭毛型式、利用葡萄糖後的產氣狀態、持家基因的親緣演化分析。通常這些建議都屬於必需要完成，才能確定出一個物種。以乳酸菌為例，Mattarelli 等 (2014) 也提出在描述菌種特徵時分為必要的和額外的項目，從字面上解讀這額外的項目，在著作受到同儕審查時，可以討論並取捨是否要進行試驗。從以上來看，細菌鑑定必備的三大特徵，表現型 (phenotype)、化學型 (chemical type) 和基因型 (genotype)，三者統合稱為多相分類學 (polyphasic taxonomy)。一直以來，DNA 雜合技術 (DNA-DNA hybridization) 是微生物分類鑑定的黃金標準，相近物種間的相似性大於 70%，即被認定為同一物種，小於則為亞種或不同種。但此項實驗於各實驗室的操作再現性不佳、耗時與數據資料無法累積，資訊不發達的時代，易造成菌種學名錯誤及分類地位更動的情況經常出現 (Wittouck *et al.* 2019)。

隨著 DNA 定序技術的發展及成本降低外，全基因體定序分析 (whole genome sequencing, WGS) 已被導入細菌多相分類的一環。有了全基因體定序的資料，可以取代 DNA hybridization、DNA GC content 及多基因座序列分析 (multilocus

sequence analysis; MLSA)等資料無法累積、共享及再現性不佳的缺點。Chun 等人(2018)提出以基因體序列分析作為原核生物分類鑑定的最基本標準後，細菌分類學家提出的物種依據都必需有此項分析，以此為基礎進行物種間 OGRI (overall genome relatedness index)相似性測定。這指數包含例如 ANI(average nucleotide identity)、及 dDDH (digital DNA-DNA hybridization)等分析。兩個數值的判斷標準分別為 95–96%及 70%，只要大於這個數值即被認定為同一物種。也因如此，以往常食用的乳酸菌保健食品，最常見的菌種屬名為 *Lactobacillus* sp.，內含 261 個種，如今已被拆分至 25 個屬之多。

另一個目前新興且熱門的鑑定分析技術為培養體學結合蛋白質體學，說新興也超過十年了。這是基於人體微生物組計畫後，腸道微生物吸引研究人員的興趣。如何能把深植腸道的微生物於體外成功培養，並快速分析出來。雖然 metagenomics 可以得到基因序列的資訊，但菌養不出來仍舊無法利用。快速且高通量的蛋白質體學分析方法，首推 MALDI-TOF MS。此方法為解析微生物全細胞蛋白質，分析分子量為 2000–20000 Daltons 範圍的蛋白質。這部份的蛋白質為核糖體蛋白(ribosomal proteins)及結構性蛋白(structural proteins)系列的持家蛋白質(housekeeping protein)所組成

(Dieckmann *et al.* 2008)，較不易受到培養條件的改變而影響。因為菌必需長的出來才能進行蛋白質體學分析，這兩種體學是經常搭配使用。也因為快速、高通量的關係，可以將培養出的菌株進行去重複化工作，進而降低研究成本。

菌種保存

現今的菌種要長期保存，方法不外乎兩種，一為冷凍(cryopreservation)，另一為凍乾(lyophilization)；兩者截然不同，或可稱前者為濕式，後者為乾式，其他短期的暫存法在此不提。兩種方法各有優缺點，以更長遠的角度來看，能使用乾式保存就盡量會選用此，只要菌種承受的住昇華造成的傷害，保存 20 年後仍可順利培養。

總結

細菌鑑定最初步、最快速的分類歸群還是要以獲得 16S rRNA 基因序列為主，公領域的 NCBI GenBank、EzBioCloud(Yoon *et al.* 2017)序列資料庫是免費而且再現性佳，用來進行分析比對較為正確且客觀。資料越來越多，常常一株菌可能被登錄 2–3 條序列，使用者在比對時要確認再確認其正確性。序列資料庫的維穩，背後是需要很多人及成本的維護。隨著物種發表的量越來越多，此項特徵在某些相近菌群的解析度已無法區分彼此，必需佐以持家基因序列進行分析。若

經費充裕可採取更全面性的全基因體序列資料，讓難題迎刃而解。有了 16S rRNA 基因序列並將之建構於快速高通量的 MALDI-TOF MS 資料庫內，逐步包含各種菌類，與世界上其他微生物資源中心能夠進行資料庫交換。細菌鑑定的最終目的，希望能取得物種正確的名字，關於名字是否合法使用，原核生物類必需參考國際期刊 *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (IJSEM) 內是否有被發表或認可。在它種期刊發表的物種出刊後，必需同步送至 IJSEM 進行審核，才被視為有效。要能夠長久使用好用的菌種，端賴穩定的保存系統讓菌永續下去。實驗室在行有餘力的狀況下，可選用濕式或乾式的方法；再者，也可外包給有信譽的保存中心，例如食品所生資中心，會是研究人員的首選。

參考文獻

- Besser, J., H. A. Carleton, P. Gerner-Smidt, R. L. Lindsey, and E. Trees. 2018. Next-generation sequencing technologies and their application to the study and control of bacterial infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 24: 335–341.
- BiOLOG。Microbial Identification。網址 (<https://www.biolog.com/products-portfolio-overview/microbial-identification/>)。瀏覽日期 2022 年 6 月 25 日。
- BioMérieux。VITEK® 2 COMPACT Compact, automated ID/AST instrument。網址 (<https://www.biomerieux-diagnostics.Com/vitek-r-2-compact-0>)。瀏覽日期 2022 年 6 月 25 日。
- Chun, J., A. Oren, A. Ventosa, H. Christensen, D. R. Arahal, M. S. da Costa, A. P. Rooney, H. Yi, X. W. Xu, S. De Meyer, and M. E. Trujillo. 2018. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 68: 461–466.
- Dieckmann, R., R. Helmuth, M. Erhard, and B. Malorny. 2008. Rapid classification and identification of *Salmonellae* at the species and subspecies levels by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 7767–7778.
- Handelsman, J. 2004. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68: 669–

- 685.
- Logan, N. A., O. Berge, A. H. Bishop, H.-J. Busse, D. De Fritze, M. Heyndrickx, P. Kämpfer, L. Rabinovitch, M. S. Salkinoja-Salonen, L. Seldin, and A. Ventosa. 2009. Proposed minimal standards for describing new taxa of aerobic, endospore-forming bacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59: 2114–2121.
- Mattarelli, P., W. Holzapfel, C. M. A. Franz, A. Endo, G. E. Felis, W. Hammes, B. Pot, L. Dicks, and F. Dellaglio. 2014. Recommended minimal standards for description of new taxa of the genera *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and related genera. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64: 1434–1451.
- Wittouck, S., S. Wuyts, and S. Lebeer. 2019. Towards a genome-based reclassification of the genus *Lactobacillus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 85: e02155–18.
- Yoon, S. H., S. M. Ha, S. Kwon, J. Lim, Y. Kim, H. Seo, and J. Chun. 2017. Introducing EzBioCloud: A taxonomically united database of 16S rRNA and whole genome assemblies. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67:1613–1617.
- Zheng, J., S. Wittouck, E. Salvetti, C. M. A. Franz, H. M. B. Harris, *et al.* 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*. Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 70: 2782–2858.
- 行政院農委會。鑑定為安全微生物肥料菌種。網址 (<https://www.coa.gov.tw/ws.php?id=23858>)。瀏覽日期 2022 年 6 月 24 日。
- 行政院農委會農糧署。國產微生物肥料推薦的品牌。網址 (https://www.afa.gov.tw/cht/index.php?code=list&flag=detail&ids=2212&article_id=50154&keyword=%E5%BE%AE%E7%94%9F%E7%89%A9%E8%82%A5%E6%96%99)。瀏覽日期 2022 年 6 月 24 日。
- 財團法人食品工業發展研究所生資中心。網址 (https://www.bcrc.firdi.org.tw/c_service/c09_profile/)。瀏覽日期

2022 年 6 月 24 日。

衛生福利部食品藥物管理署。食品原料整合查詢平臺。網址(<https://consumer.fda.gov.tw/Food/Material.aspx?nodeID=160>)。瀏覽日期 2022 年 6 月 25 日。

fda.gov.tw/Food/Material.aspx?nodeID=160)。瀏覽日期 2022 年 6 月 25 日。

Identification and preservation of plant and environmental bacteria

Jia-Rong Ku¹ and Chia-Hsin Tsai^{2,*}

¹Bioresource Collection and Research Center, Food Industry Research and Development Institute, Hsinchu, Taiwan, ROC.

²Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung city, Taiwan, ROC.

Abstract

The technology of microbial identification is changing rapidly, from phenotype, chemical type and genotype, collectively known as polyphasic taxonomy, to culturomics, proteomics and genomics. Taxonomists are constantly refining identification techniques in the hope of solving the complicated taxonomic problems of the world of tiny organisms. Almost every researcher wants to be able to obtain the results of the analysis quickly and with high throughput, so as to handle the urgent needs of border quarantine and domestic epidemic prevention.

Key words: bacterial identification, preservation, rRNA gene sequence, MALDI-TOF MS, whole-genome sequencing

* Corresponding author.

E-mail: tsaich@tari.gov.tw

分子技術在重要作物病原真菌的鑑定與偵測

王智立^{1,2,3,4,*} 朱皇熹^{1,4}

¹ 國立中興大學植物病理學系。台中市。台灣。

² 國立中興大學植物醫學暨安全農業碩士學位學程。臺中市。臺灣。

³ 國立中興大學永續農業創新發展中心。臺中市。臺灣。

⁴ 智慧永續新農業研究發展中心。臺中市。臺灣。

摘要

隨各國人員及農產品的頻繁交流，有害生物跨境的機會增加，植物防檢疫的工作量也隨之增加，準確及快速的鑑別出有害生物一直為植物防檢疫上須面對的課題。近二十年分子技術的進步，使 DNA 解序成本降低，基因序列成為分析物種親緣演化關係的重要依據，利用多位點基因分型的真菌分類、鑑定方法逐漸被廣泛接受後，真菌分類中種的辨識也逐漸由形態種辨識、生物種辨識演變為親緣種辨識，本文以兩屬重要植物病原真菌炭疽病菌(*Colletotrichum*)及鐮孢菌(*Fusarium*)之重要物種，說明親緣種辨識下植物病原菌物種概念學名的演替。並彙整前人研究闡述 effector 基因、toxin 生合成基因、轉座子及基因體資訊於植物病原真菌偵測的應用，及可應用於田間病害檢測的分子技術。

關鍵詞: 真菌鑑定、真菌偵測、親緣種、炭疽病菌、鐮孢菌

前言

由於生物之生長特性、寄生性及生態位等的不同，要瞭解物種間的生態關係及生物特性，必須針對不同物種進行區分及鑑定，因此真菌的分類鑑定一直是真菌學上的重要基

礎。其中具有寄生性的真菌可顯著影響人類的生活及經濟活動，隨著世界各國之間的頻繁交流，除了人口的流動，產品的交易也十分龐大，其中農產品就是重要的交易產品之一，也增加有害生物跨境的機率，因此準確及快速的鑑別出有害生物已成為植物防檢疫上須

*論文聯繫人

E-mail: clwang@nchu.edu.tw

不斷提升的方向，也是真菌分類及鑑定上須面對的課題。

長久以來，植物病原真菌種類鑑定主要建立在形態物種辨識 (morphological species recognition，簡稱 MSR)，依據形態特徵，包含了子實體、產孢構造、產孢方式、孢子以及菌絲等作為鑑定的特徵依據。以 *Colletotrichum* 屬的炭疽病菌為例，形態物種辨識的方法會基於寄主物種、基質、分生孢子大小與形狀、附著器形狀、菌落生長速率、菌落顏色、剛毛的有無、有性態的有無等特徵進行分類 (Von Arx 1957)；又如 *Fusarium* 屬的镰孢菌，則以小孢子的有無與形狀、小孢子的排列方式、大孢子的形狀、大小與隔膜數、大孢子足細胞的形態、厚膜孢子的有無、有性世代及培養基上生長的速度與產生的色素等特性進行镰孢菌的區分 (Nelson *et al.* 1983)；另外部分同種的镰孢菌 (如 *F. oxysporum*) 常因具寄主專一性，無法以形態分類方式加以區分，而衍生出依照寄主範圍測試的結果進行分化型 (forma specialis) 的判定。

然而，上述提到的形態鑑定方法，需要將鑑定物仔細、精確的觀察及測量鑑定物的各部分形態特徵及大小，並與模式標本進行比對，然而模式標本取得不易，增加比對上的困難，加上生長的基質及環境常導致形態上的變異。此外，部分種類需分離出來加以培養後才能進行比較，甚至需完成病原性測試才能有效地進行鑑定。以 *Colletotrichum* 屬的炭

疽病菌來說，相同的菌株可能會因為培養條件不一致、菌落與孢子形態可能因菌株變異而發生改變，出現特徵重疊、混淆的情形，即使是分類專家也常感到困擾 (Weir *et al.* 2012)，加上炭疽病菌寄主範圍廣泛，能以不同營養型態與多種作物交互作用，無法單純依照寄主進行區分 (Johnston *et al.* 2005)。*Fusarium* 屬的镰孢菌鑑定亦是長久以來的問題之一，一般培養基上具較多鑑別特徵的大孢子不易產生，且產孢形態特徵易受到培養基的影響，因此許多研究建議將菌種培養於 carnation leaf agar 上 (Nelson *et al.* 1983)；此外，培養基的成分及光照環境也顯著影響菌株的生長及色素產生，菌落或孢子外觀特徵因為主觀問題而容易導致不同鑑定結果。除了形態特徵判斷不易外，從分離到純培養病原菌、形態特徵的觀察測量，亦或是進行病原性的測試，這些實驗結果都需要耗費相當長的時間，無法有效的消化現代貿易需要進行的檢疫量，因此發展出快速且準確的鑑定方式成了現今的一大課題。

分子技術在病原真菌的鑑定

親緣演化種的緣起與興起

除了上述的 MSR，根據同物種生物可相互配對產生有遺傳變異後代的自然特性所使用生物物種辨識 (biological species recognition，簡稱 BSR) 的方法也應用於植物病原真菌的鑑定，如 *Fusarium fujikuroi* 複合種 (Hsieh *et al.* 1977; Kuhlman 1982) 及

Fusarium solani 複合種(Matuo & Snyder 1973; Van Etten & Kistler 1988)的鑑定曾以 mating population 進行區分，並提供比 MSR 更為細緻的族群鑑別。然而約有 20%的真菌不產生有性態 (Reynolds 1993)，如 *Fusarium oxysporum* 尚未能於實驗室中誘導出有性態，無法以 BSR 進行鑑定；同一屬的菌有些為同絲型(homothallic)真菌，有性態產孢構造的產生無法直接說明是由兩個相互對峙培養的菌株配對產生的，因此 BSR 的鑑定方式無法廣泛應用於真菌的鑑定。近二十年，多基因序列的遺傳分子特徵衍生的親緣物種辨識 (phylogenetic species recognition，簡稱 PSR)，由於不具有 BSR 潛在的缺點，所鑑別的種內族群亦與 BSR 所獲得的結果相同，甚或更細緻，使得 PSR 廣泛運用於病原真菌的鑑定。以下以 *Colletotrichum* 及 *Fusarium* 為例說明親緣種辨識對植物病原真菌種的意義的改變。

親緣演化種在重要病原真菌的建立

Colletotrichum

許多 MSR 的 *Colletotrichum* 種類在親緣物種辨識下發現多數為一個複合種 (species complex)，甚至包含多個複合種，至 2021 年，*Colletotrichum* 至少可區分出 257 種及 15 個複合種 (Talhinhas & Baroncelli 2021)，其中 Gloeosporioides 複合種及 Acutatum 複合種分別為包含物種第

一及第二豐富的複合種。

Colletotrichum gloeosporioides 是 Penzig 基於 *Vermicularia gloeosporioides* 的特徵所建立，分離自義大利的柑橘 (Penzig 1882)。之後許多根據形態特徵、培養特性及寄主所建立的 *Colletotrichum* spp. 被合併為 *C. gloeosporioides* (Von Arx & Muller 1954; Von Arx 1957, 1970)，在親緣物種建立以前 *C. gloeosporioides* 已被記錄於 500 種以上的植物。在台灣多數的植物上的炭疽病也記錄由 *C. gloeosporioides* 所引起。Cannon *et al.*(2008) 建立 *C. gloeosporioides* 的詮釋模式 (epitype)，使得與 *C. gloeosporioides* 形態相似的親緣種得以被探討。至 2021 年，Gloeosporioides 複合種中包含 57 種，可區分成 Kahawa 支序群 (clade)、Musae 支序群及 Theobromicola 支序群。過去許多記錄在 *C. gloeosporioides* 的物種在 PSR 分群下歸屬於 Acutatum 複合種及 Boninense 複合種，即使歸屬於 Gloeosporioides 複合種也不一定是 *C. gloeosporioides*，而是 Gloeosporioides 複合種中的其他種。*C. gloeosporioides* 親緣種建立後的初期，該種僅於柑橘屬、核桃、樹番茄、葡萄、葛藤屬及芒果屬等少數植物上發現 (Weir *et al.* 2012)，然而經十多年後，許多植物上紛紛發現該種的存在如：秋葵、斐濟果、龍眼、茶、辣椒、咖啡、杉木、鐵皮石斛蘭、蛛蜘蛛蘭、酪

梨及蓮霧等數十種植物，顯示 *C. gloeosporioides* 仍為寄主範圍廣泛的病原菌(Talhinhas & Baroncelli 2021)。此外，*Glomerella cingulata* 是 Stoneman (1898) 由罹病的歐洲女貞(*Ligustrum vulgare*)莖部分離獲得，並可於培養基上產生子囊殼。根據形態物種辨識 *G. cingulata* 一直被連結為 *C. gloeosporioides* 的有性態 (Small 1926; Von Arx & Muller 1954)，然而親緣物種辨識的結果顯示目前以 PSR 鑑定的 *C. gloeosporioides* 尚未觀察到有性態的產生，因此推測 *C. gloeosporioides* 與 *G. cingulata* 很可能不是同一個物種。*Gloeosporioides* 複合種中的重要物種，包含：*C. kahawae* 主要發現於非洲，可感染發育中的咖啡果造成 CBD (coffee berry disease)，嚴重影響咖啡的生產，對亞洲及美洲的咖啡生產區具檢疫考量(Batista *et al.* 2017)；*C. queenslandicum* 主要分布於澳洲，零星分布於美洲及歐洲，可造成木瓜、酪梨、荔枝、芒果及百香果等作物炭疽病。

C. acutatum 的模式標本是由 Simmonds (1968) 所指定，分離自澳洲罹病的木瓜組織。*Acutatum* 複合種至 2021 年包含 41 種 *Colletotrichum*，可於 171 種植物上發現，亦可感染介殼蟲(Marcelino *et al.* 2008)及海龜(Manire *et al.* 2002)，除 *C. acutatum* 及 *C. fioriniae* 分別為單一物種支序群，其餘種可分屬於 3 個支序群，其中 *Lupini* 支序群主要分布於新熱帶界(neotropical origin)，

Nymphaeae 支序群包含最多的物種，主要分布於亞洲及大洋洲，*Godetiae* 支序群分布於多個地點，惟支序群的代表物種 *C. lupini*、*C. nymphaeae* 及 *C. godetiae* 皆為全球廣泛分布(Talhinhas & Baroncelli 2021)。其中 *C. acutatum* 可感染多種植物，包含草莓、咖啡、哈克木、輻射松及油橄欖等，主要記錄在大洋洲、非洲及地中海地區。*C. fioriniae* 分離自 *Fiorinia externa* (elongate hemlock scale)，並為鐵杉的內生真菌；*C. fioriniae* 亦可造成蘋果、藍莓及蔓越莓果腐，並可分離自多種植物，分布於各大洲，尤其是溫帶地區。*C. godetiae* 主要分布於歐洲之杏仁、草莓、桃、蘋果及橄欖等，並可分離自其他多種植物。*C. nymphaeae* 分布於各大洲，最早紀錄為草莓、蘋果、冬青葉小蠹、香葉天竺葵及油橄欖的病原菌，之後於其他多種植物分得；*C. nymphaeae* var. *entomophilum* 為柑橘介殼蟲(*Praelongorthezia praelonga*)之天敵(Wynns *et al.* 2019)。

過去許多炭疽病的病原菌皆紀錄為 *C. gloeosporioides* 及 *C. acutatum*，然而經系統性調查採樣及應用親緣種辨識進行鑑定後，結果常令人意外。以台灣芒果炭疽病為例，收集到的芒果炭疽病菌皆屬於 *Gloeosporioides* 複合種及 *Acutatum* 複合種，然而經鑑定後 *Gloeosporioides* 複合種中的親緣種為 *C. asianum*, *C. fructicola*, *C. siamense* 及 *C. tropicale*，其中又以 *C. asianum* 為主要的病原菌；另一方面

Acutatum 複合種 的親緣種則有 *C. scovillei* 及 *C. sloani* (Lin 2018; Wu *et al.* 2020) 。顯示親緣種概念之 *C. gloeosporioides* 及 *C. acutatum* 雖有廣泛的寄主範圍，且在其他國家曾紀錄於芒果上 (Phoulivong *et al.* 2010; Shivas *et al.* 2016) ，但未於台灣所調查的樣品中發現。

Fusarium

F. oxysporum 是由 Schlechtendal 所建立，從腐爛的馬鈴薯塊莖中分離到，特色為大孢子兩端特別尖 (Von Schlechtendal, 1824) 。1913 年 Wollenweber (1913) 基於相似的小孢子、大孢子形態和大小，將 *F. oxysporum* 與其他 8 個種 *F. tracheiphilum*, *F. vasinfectum*, *F. vasinfectum* var. *inoderatum*, *F. niveum*, *F. lycopersici*, *F. redolens*, *F. orthoceras*, *F. conglutinans* 納入 section Elegans，意指大孢子纖細優美之意，之後 Snyder 和 Hansen (1940) 將上述幾個物種併入 *F. oxysporum*，並針對不同的寄主病原性提出了 25 個分化型 (formae speciales) (Snyder & Hansen 1940)，這樣的分類形式大多數都被沿用至今，至 2019 年止，有紀錄的分化型大約有 140 多種 (Edel-Hermann & Lecomte 2019; Lombard *et al.* 2019)，而結合這些植物病原性的菌株以及被歸類到 *F. oxysporum* 的非病原性菌株和人類病原性菌株就稱為 *F. oxysporum* species complexes (FOSC)。在 2019 年，Lombard

等人指出了儘管分化型的分類方式被應用至今，甚至還加入了 haplotypes、races、及 vegetative compatibility groups (VCGs) 作為附加的分類系統，但是由於分化型的分類形式不屬於國際藻類、真菌和植物命名規約 (International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants, ICN) 所規範 (McNeill *et al.* 2012; Turland *et al.* 2018)，因此不算是正式的分類命名方式，也不需保存 type 菌株於公認的公共儲存庫中，這些都增加了 FOSC 群的菌株在分類學和命名上的複雜度 (Lombard *et al.* 2019)。Lombard 等人利用多基因親緣分析將 91 株 FOSC 群的菌株分成了包含 *F. oxysporum* 的 20 個種，包含 15 個新種，值得注意的是其結果顯示了許多原先不同分化型的菌株在親緣演化的結果上被歸類為同一種，而原本是同一種分化型的菌株則可能分散到許多不同的種之中 (Lombard *et al.* 2019)，這樣的結果在同一年的另一篇重新分類 *F. oxysporum* f. sp. *cubense* 的文獻中也有相似結果，作者將大約 200 株分離自具香蕉黃葉病病徵的菌歸類到 11 個新種中 (Maryani *et al.* 2019)，這些研究結果為 FOSC 群的菌株分類開啟了新的里程。

小麥赤黴病 (Scab or Fusarium head blight, FHB) 為穀類作物的重要病害，不僅造成小麥產量大量的損失，更使得受感染的穀粒遭受真菌毒素的污染而影響人類及動物的食物安全 (Miller *et al.* 1991)。引起小麥赤黴

病的 *Fusarium* 有許多種，其中最主要的病原菌為 *F. graminearum* (Windels 2000; Leonard & Bushnell 2003)。而在 2004 年，O'Donnell 等人結合了 11 個基因序列進行親緣演化分析，區分出了 *F. graminearum*、*F. austroamericanum*、*F. meridionale*、*F. boothii*、*F. mesoamericanum*、*F. acaciae-mearnsii*、*F. asiaticum*、*F. cortaderiae* 和 *F. brasiliicum* 等 9 個親緣種 (O'Donnell *et al.* 2004)。後續的研究更增加親緣種的數目達 16 種 (Sarver *et al.* 2011)，而有趣的是這些分化出的親緣種與分布的地理區域有著密切的關係 (O'Donnell *et al.* 2000)，這也代表了不同地理區域的相同病害，可能會有不同的親緣種出現，間接的影響到人們對於目標病害的檢測、防治。

另外，大豆猝死症 (sudden death syndrome, SDS) 最早於 1971 年美國的阿肯色州 (Arkansas) 中被觀察到，一開始認定造成之病原菌為 *Fusarium solani*。1997 年命名為 *F. solani* f. sp. *glycines* (Roy 1997; Roy *et al.* 1997)，此病害造成美洲地區大豆產量的極大損失，包含了北美和南美 (Roy *et al.* 1997)、阿根廷 (Ploper, 1993)、巴西 (Nakajima, 1993)、加拿大 (Anderson & Tenuta 1998)、巴拉圭 (Yorinori 1999)、玻利維亞 (Yorinori 2002)、烏拉圭 (Ploper *et al.* 2003)。到了 2003 年，Aoki 等人利用 28S rDNA、ITS 和 *TEF-1a* 基因進行親緣演化分析，將 *F. solani* f. sp. *glycines* 菌株重新命名

分成北美群的 *F. virguliforme* 以及南美群的 *F. tucumaniae* (Aoki *et al.* 2003)。兩年後再利用前述 3 個基因加上 IGS 進行親緣演化分析，更是將造成大豆猝死症的病原菌分為 4 個種，包含原先的 *F. virguliforme* 和 *F. tucumaniae* 以及兩個新種 *F. brasiliense* 及 *F. cuneirostrum* (Aoki *et al.* 2005)。因此隨著 DNA 親緣演化分析的日益更新，許多原本認為是一種病原菌的病害，逐漸被區分出不同的親緣種。

另一個例子就是造成落葉松潰瘍病的 *Fusarium circinatum*，此病害最早在 1946 年於美國被描述 (Gordon *et al.* 2001)，可以造成苗木與成熟樹木的嚴重破壞並死亡，從而導致重大經濟損失 (Wingfield *et al.* 2008)，因此是世界多國包含台灣名列的檢疫菌株，值得注意的是該病害在 2015 年的文獻中，利用 *TEF 1-α* and β -tubulin 兩基因將從具有類似落葉松潰瘍病病徵的松樹中分離之鐮刀菌屬菌株進行親緣分析，共可以區分成 10 多種鐮刀菌，其中在 *Fusarium fujikuroi* species complex 裡面有五個種被定為新種，而 *F. marasiasianum*、*F. parvisorum* 和 *F. sororula* 經測試其對於垂枝松 (*Pinus patula*) 的病原性與原本 *F. circinatum* 的病原性相當 (Herron *et al.* 2015)，因此從這例子中，可以了解到檢疫清單上的菌株可能會因為更深入的研究而產生新的親緣種，未來應同時對這些有潛在危害風險的新親緣種進行風險評估。

分子技術在病原菌的偵測

Effector genes 在偵測的應用

在許多病原菌中會有其特定的 effector 影響著其對寄主的致病性，其中 Secreted in xylem (*SIX*) 就是一群具有病原性的 *F. oxysporum* 所特有的 effector，這類型 effector 會被病原菌 *F. oxysporum* 分泌至寄主的木質部中故得名，最初在受 *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fol*) 感染的番茄植株的木質部汁液中分離到 (Rep *et al.* 2002; Jangir *et al.* 2021)，之後經過陸續的研究，目前已經有 14 個主要的 *SIX* 基因被報導 (Rep *et al.* 2004; Houterman *et al.* 2007; Van Der Does *et al.* 2008; Schmidt *et al.* 2013)，而這類的基因在其他的分化型中也發現了同源基因的存在 (Jangir *et al.* 2021)。多數的 *SIX* 基因功能尚未被詳細研究，不過已有部分研究表明 *SIX* 基因與病原菌的致病力表現有相關聯，在番茄、香蕉及甘藍的研究中，*F. oxysporum* 對應的分化型菌株在剔除掉單一 *SIX* 基因後，突變株對寄主的致病力有顯著的下降 (Rep *et al.* 2004; Li *et al.* 2016; Widinugraheni *et al.* 2018)，除了做為影響菌株致病力的因子外，在 *Fol* 的研究中也表明 *SIX1*、*SIX3*、*SIX4* 亦作為 Avirulence (*Avr*) 基因可分別誘發番茄的抗性基因 *I-3*, *I-2* and *I-1* (Immunity gene) 產生抗病反應 (Rep *et al.* 2004; Houterman *et al.* 2008, 2009)。而結合前述這些結果，越

來越多研究發現 *SIX* 基因的組成與序列差異，似乎與 *F. oxysporum* 不同生理小種與分化型的出現有著密切關係，例如 *Fol* 中因為 *Avr1(SIX4)* 的缺失導致 *race2* 的出現，而 *race2* 中的 *Avr2(SIX3)* 點突變導致了演化出 *race3* (Houterman *et al.* 2008, 2009; Takken & Rep 2010; Biju *et al.* 2017)，且不同分化型與生理小種的菌株可能會有不同的 *SIX* 基因組成 (Lievens *et al.* 2009; Carvalhais *et al.* 2019; Batson *et al.* 2020; Jenkins *et al.* 2021; Simbaqueba *et al.* 2021)，推測與 *F. oxysporum* 致病基因產生水平轉移有關 (Ma *et al.* 2010; Schmidt *et al.* 2013; Simbaqueba *et al.* 2018)。有趣的是這些 *SIX* 基因在不同分化型或生理小種有獨特的差異，但在相同分化型或生理小種的基因組成或序列裡卻擁有高度的相似性 (Lievens *et al.* 2008, 2009; Cziślowski *et al.* 2018; Carvalhais *et al.* 2019; Cziślowski *et al.* 2021)，因此針對 *SIX* 基因作為區分鑑定 *F. oxysporum* 的分化型或生理小種是可行的，像是利用感染洋蔥的 *F. oxysporum* f. sp. *cepae* (*Foce*) 的 *SIX3* 序列與 *Fol* 的差異，設計了 Real-time quantitative PCR 分子檢測 *Foce* 的工具 (Sasaki *et al.* 2015)；或是利用 *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) 不同生理小種之間 *SIX* 基因序列的差異，設計一套分子診斷 *Foc race* 的工作流程 (Carvalhais *et al.* 2019) 或可進行區分 *race* 的引子對 (Thangavelu *et al.* 2022)。

toxin 生合成基因在偵測的應用

特定植物病原菌或於農產品儲藏期生長的真菌不但會造成農產品及其衍生物的腐敗，同時還會產生真菌毒素(mycotoxin)汙染農產品影響農產品的品質，常見的例子如 *F. graminearum* 感染小麥、燕麥等穀類作物，引起赤黴病(head blight)，並同時經由新月毒素(trichothecene)的生合成路徑產生脫氧雪腐鏟刀菌烯醇(DON; deoxynivalenol)及雪腐鏟刀菌烯醇(NIV; nivalenol) (Bottalico & Perrone 2002); *Aspergillus flavus* 或 *Aspergillus parasiticus* 感染穀物後產生黃麴毒素(aflatoxin) (Gallagher *et al.* 1978; Dorner *et al.* 1984) ; *Penicillium expansum* 感染蘋果引起青黴病(blue mold of apple)，並產生具有致畸性和致癌性的棒麴毒素(patulin)，汙染蘋果汁 (Morales *et al.* 2007)。隨著分子生物學的所建立知識，真菌毒素生合成的相關基因得以被一一的鑑定與證明，由於真菌毒素的生合成基因如同其他的 house-keeping 基因一樣會隨著時間，演化出種的特異性，因此可以利用真菌毒素的生合成基因作為偵測的標的，直接鑑別出生合成真菌毒素的特定真菌，例如: Bluhm *et al.* (2002)利用新月毒素生合成路徑中的轉錄因子(transcriptional activator) *TRI6* 基因設計可鑑別 *F. graminearum* 的專一性引子，利用伏馬鏟孢毒素(fumonisin) 之 polyketide synthase *FUM5* 基因設計可鑑別 *F. verticillioides* 的

專一性引子；Dombrink-Kurtzman 和 McGovern (2007)針對 patulin 生合成路徑中的重要酵素基因 isoeipoxydon dehydrogenase (*idh*) gene 序列設計具 *P. expansum* 種專一性的引子。相信未來相關的應用亦將擴展到親緣種的鑑別。

Transposon 在偵測的應用

轉座子是能夠從基因組中的一個位置轉移到另一個位置的基因座上的一段 DNA。幾乎普遍存在於所有生物中，並且佔據物種基因組的一定比例，與生物的演化息息相關，可以促進基因失活、調節基因表達或誘導非常規重組(illegitimate recombination)，轉座子在基因組的存在與組成正是各種生物演化對於保留有用的轉座子以及丟失不利的轉座子所造成的結果(Muñoz-López & García-Pérez 2010)，在一些檢疫上重要的植物病原菌屬如：*Fusarium* (Sperschneider *et al.* 2015)、*Leptosphaeria* (Rouxel & Balesdent 2017) 及 *Verticillium* (Faino *et al.* 2016)等都有文獻提出轉化子幫助病原菌適應環境或是毒力表現，而這些隨病原菌演化至今的不同轉座子或許可以成為設計分子偵測病原菌的參考位置。以 *F. oxysporum* 為例，據統計大約有 5%的基因體顯示由轉座子所組成 (Daboussi & Langin 1994)，更有文獻研究 *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* 的全基因體中有 28%的序列被鑑定是重複序列，其中有許多就是由轉座子所組成(Ma *et al.*

2010) · 因此有許多文獻針對 *F. oxysporum* 分化型的偵測或鑑定 · 就是利用了轉座子本身或附近的區域進行專一性引子對的設計 · 例如利用轉座子 *impla* 設計 *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* 的引子(Chiocchetti *et al.* 1999) · 利用轉座子 *Hani* 設計 *F. oxysporum* f. sp. *lactucaerace1* 的引子(Pasquali *et al.* 2007) · 或是利用轉座子 *han* 和 *skippy* 之間的區域設計了 *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* 的引子(Suga *et al.* 2013) · *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* race3 的引子則和轉座子 *Gaga* 和 *Gagi* 有關(Gilardi *et al.* 2017)以及轉座子 *hop* 和 *han* 之間的區域設計 *F. oxysporum* f. sp. *lilii* 的引子(Toda *et al.* 2020)。

Genome comparison 在 primer 設計上的應用

隨著次世代與第三代定序技術的發展與成熟 · 有越來越多的生物體全基因組被定序並上傳到公共數據庫中 · 因此不論是傳統上利用保守基因或是前述提及的特殊基因如 effector、transposon 等都可利用全基因體的資料進行搜尋以及比對其他非目標菌株 · 除此之外更可以獲得目標片段前後的 DNA 序列或是非轉錄序列片段進行比較 · 將有助於精進目標引子對的效用 · 另外也可藉由全基因體的資料比對尋找尚未被鑑定但具有專一性的候選基因或是非轉錄區域 · 從中進行專一性引子對的設計 · 在許多重要的檢疫病原菌像是 *Phytophthora ramorum* 和 *P.*

lateralis (Feau *et al.* 2019) · *Verticillium dahlia* (Short *et al.* 2014) · *Leptosphaeria maculans* 與 *L. biglobosa* (Hossain *et al.* 2021)及許多的 *Fusarium oxysporum* 分化型(Suga *et al.* 2013; Ling *et al.* 2016; Kim *et al.* 2017; Burkhardt *et al.* 2019; Thangavelu *et al.* 2022)等 · 都使用到了全基因體相關的比對資料 · 綜合上述所言 · 全基因體的資料對於要針對目標病原真菌進行專一性引子設計是極為重要且實用的工具。

分子技術在病害的診斷

在 1980 年代 PCR 技術的問世 · 開啟了生物學研究的一扇新大門(Bruce *et al.* 1999) · 除了定序特定 DNA 片段進行親源演化分析外 · 許多技術也發展建立在 PCR 增幅後短時間內肉眼可判讀結果的目標上 · 包含了隨機擴增多態性 DNA(random amplified polymorphic DNA, RAPD) · 限制性片段長度多態性(restriction fragment length polymorphism, RFLP) · 擴增片段長度多態性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)以及序列特徵化增幅區域(sequence characterized amplified region, SCAR)等(Shamim *et al.* 2017) · 這些方式可以有效鑑定出一些目標病原菌 · 但這些技術主要呈現出的是不同菌的多型性圖譜差異 · 常有再現性低、分析費時等問題(Lievens *et al.* 2008; Hossain *et al.* 2020) · 因此人們更進一步利用前述技術或是特定基

因設計專一性的引子，藉由專一性的引子進行 PCR 增幅，達到快速穩定的判讀效果。因此利用具有專一性的引子進行 conventional PCR 偵測檢疫病原菌成了最基礎最廣泛使用的工具之一，例如偵測 *Leptosphaeria maculans* 和 *L. biglobosa* (Liu *et al.* 2006; Fernando *et al.* 2016)、*Verticillium dahlia* (Li *et al.* 1999; Usami *et al.* 2002)以及不同的 *Fusarium oxysporum* 分化型(Shimazu *et al.* 2005; Luongo *et al.* 2012; Kim *et al.* 2017; Gilardi *et al.* 2017)。以設計專一性引子進行 PCR 增幅為基礎，衍伸了更多精進的偵測方式，像是結合多組引子對同時進行增幅的 multiplex PCR，其好處在於第一：可能同時存在一目標樣本的多種病原菌(Ali 2017)，例如以一次反應區分對蕃茄具有病原性的 *Fusarium oxysporum* 分化型以及生理小種(Hirano & Arie 2006)，第二：以一組引子作為內部對照組，可以消除偽陽性或偽陰性的可能性，達到提升專一性引子的效用(Shen, 2019)，像是在檢測甘藍黃葉病 *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* 時，加入一組 *Fusarium* 屬通用引子即為此目的(Ling *et al.* 2016)。但無論是 conventional PCR 或是 multiplex PCR 技術都只能做到定性而無法做到定量的效果，且需要跑完 PCR 後再進行電泳確認，另外 multiplex PCR 的設計複雜，靈敏度通常不如單組引子的 PCR (Shen 2019)，為了解決這些問題，Real-time PCR 技術就是可以被考

慮的，這類技術透過螢光染劑或分子產生的螢光信號會與 PCR 產物分子的數量成正比來測量每個 PCR 循環後的 DNA 量，達到即時偵測與定量 DNA 的目的，在這裡面最常被應用的類型就屬於利用特殊螢光染劑 SYBR green 或是利用螢光探針(probe)相關的 TaqMan probe 及 Molecular Beacon，使用 SYBR green 的檢測成本相對探針技術較為低廉，但探針技術的靈敏度和專一性相對於 SYBR green 則較高(Yadav & Singh 2017)，各有優勢及缺點，研究者可以依照需求而做出不同選擇，像是對於 *F. oxysporum* f. sp. *cepae*、*Verticillium* 使用 SYBR green 的檢測方式(Sasaki *et al.* 2015; Tzelepis *et al.* 2017)；對於 *Phytophthora ramorum* 和 *P. lateralis*、*F. oxysporum* f. sp. *fragariae* 利用 TaqMan probe 進行檢測 (Feau *et al.* 2019; Burkhardt *et al.* 2019)；另外也有研究探討 3 種即時偵測方法偵測 *P. ramorum* 的比較，結果顯示使用 TaqMan probe 的偵測方式有更加靈敏的結果(Bilodeau *et al.* 2007)。

田間診斷工具的開發與應用

在上述許多檢測技術建立起來後，為了符合檢疫需求或商業應用性，偵測植物組織、種子、土壤介質等是否含有目標病原菌成了重要課題，而要克服的首要問題就是植物或土壤中那些可能干擾 PCR 反應的物質，因此許多用於純化 DNA 的試劑套組也隨之發展

(Schrader *et al.* 2012) · 在許多植物病原菌偵測的例子中可見 · 如從種子中檢測重要病原菌 *L. maculans* (Chen *et al.* 2010; Song *et al.* 2016) · 及偵測植物組織、土壤、水源中的 *F. oxysporum* f. sp. *cubense* 作為早期預防的措施(Matthews *et al.* 2020) · 除了克服干擾 PCR 的物質外 · 由於大部分 PCR 的技術都建立在對溫度循環、機器等高要求 · 難以在樣本現場或田間就進行偵測 · 因此近年來許多攜帶方便、能夠在現場做檢測的技術逐漸被研究及討論 · 常見用於田間偵測及可等溫增幅(isothermal amplification)的技術有重組酶聚合酶擴增(recombinase polymerase amplification, RPA) · 解旋酶依賴性擴增法(helicase dependent amplification, HDA) 及恆溫環狀擴增法(loop-mediated Isothermal amplification, LAMP) · RPA 主要藉由三種在常溫下也具有活性的酶:重組酶(recombinase) · 單鏈 DNA 結合蛋白 (single-stranded DNA-binding protein, SSB) 以及鏈置換 DNA 聚合酶 (strand-displacing polymerase) 完成常溫 DNA 增幅的目的(Piepenburg *et al.* 2006) · 其優點在於反應溫度可在 30 - 42°C 的溫度範圍內進行 · 換言之就是用手溫握著即可反應 · 以及通常反應時間約 30 分鐘內即可(Yu *et al.* 2019; Lu *et al.* 2021) · 但 RPA 缺點則有對擴增產物的長度有 1500 bp 的限制(Piepenburg *et al.* 2006) · 而用於橫向流動分析 (Lateral Flow Assays, LFA) 的 RPA 其

DNA 產物則通常要求更小(Safenkova *et al.* 2020) · 另外 RPA 的另一個限制是因為反應在相對低溫下進行 · 因此引子錯配(mismatches)的機率就偏高 · 這有可能影響了 RPA 增幅的效率以及偽陽性的產生(Daher *et al.* 2015) · RPA 應用於植物病原真菌偵測的例子不在少數 · 像是 *Phytophthora* (Yu *et al.* 2019; Lu *et al.* 2021)和 *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* (Burkhardt *et al.* 2019) · HDA 最大的特色則是將 DNA 解旋酶(DNA helicase)替代 PCR 中需高溫將雙鏈 DNA 打開的步驟 · 不同的酶使用可以讓反應在 37°C 或 60-65 °C 進行反應(Vincent *et al.* 2004; An *et al.* 2005) · 優點是相較於其他等溫增幅技術其引子設計較為簡易類似於 PCR 引子的設計 · 但缺點是反應時間通常也需要 1 小時左右(Ivanov *et al.* 2021)以及需要複雜的優化以確保解旋酶和 DNA 聚合酶之間的協調活性(Lau & Botella 2017) · 然而 HDA 用於植物病原檢測的研究仍然不多 · 目前已知有檢測 *Phytophthora* 的應用 (Schwenkbier *et al.* 2015a; 2015b) · 而 LAMP 使用兩套或三套引子和具有高鏈置換活性以及複製活性的 DNA 聚合酶進行擴增 · 與 RPA 不同 · 反應溫度需在 60-65 °C 效果最佳 · 且反應時間通常需要 1 小時 · 優點是所需的設備和反應化合物成本低 · 但最大的困難在於需要精確的引子設計以及大量的引子選擇(Notomi *et al.* 2000) · 不過經過多年的研究 · LAMP 技術是三者裡面最常被用在

植物病原真菌檢測的方式，包含了 *Colletotrichum* (Kato *et al.* 2016; Chen *et al.* 2016)、*Phytophthora* (Hieno *et al.* 2020)、*Leptosphaeria* (Du *et al.* 2021) 以及許多 *Fusarium oxysporum* 分化型 (Ghosh *et al.* 2015; Lan *et al.* 2018; Kato *et al.* 2021)。最後這些等溫增幅的技術需要搭配可視化的技術來實現快速判讀結果的目的，常使用的方式包含染色(螢光染劑或沉澱物質)、奈米粒聚集(nanoparticle aggregation)、橫向流動分析、晶片實驗室(Lab-on-a-chip)等(Ivanov *et al.* 2021)，利用等溫增幅技術進行田間檢測的研究日漸蓬勃，如何克服各自技術的缺點進行優化，並能夠進行多種技術的比較，還有待日後的研究繼續發展。

結語

親緣種辨識利用多位點基因分型以成為真菌分類、鑑定的重要方法，近年來許多的親緣種相繼被發現、建立，導致同一種病害的病原菌種類增加，即使相同的學名，在種的意義上也不同於過去。不同親緣種間的生物意義及於防檢疫上的重要性目前仍不明確，有待未來釐清，然而更新我國的植物病害資料，使國內的學術工作及實務工作與國際接軌，將是未來的一項主要工作。另一方面，快速增加的分子資訊，提供了更多應用於病原菌鑑定的方法及技術，將有助於提升防檢疫工作的效率及準確性。

Acknowledgement

相關研究承蒙科技部計畫 MOST 107-2313-B-005-022、MOST 110-2313-B-005-014-MY3 及 MOST 110-2634-F-005-006 -智慧永續新農業研究發展中心(SMARTer)提供經費協助。

參考文獻

- Ali, M. 2017. Detection and Management of Fungal Respiratory Infection by Using Molecular Markers. p. 225-242. *In: Molecular Markers in Mycology. Fungal Biology.* Springer, Cham. *in: Rice Precision Farming System.* (Singh, B. P. and V. K. Gupta, eds.) Taiwan Springer, Cham. Switzerland. 361 pp.
- Anderson, T. R. and A. U. Tenuta. 1998. First report of *Fusarium solani* f. sp. *glycines* causing sudden death syndrome of soybean in Canada. *Plant Dis.* 82: 448-448.
- An, L., W. Tang, T. A. Ranalli, H. J. Kim, J. Wytiaz, and H. Kong. 2005. Characterization of a thermostable UvrD helicase and its participation in helicase-dependent amplification. *J. Biol. Chem.* 280: 28952-28958.

- Aoki, T., K. O'Donnell, Y. Homma, and A. R. Lattanzi. 2003. Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex—*F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. *Mycologia* 95: 660–684.
- Aoki, T., K. O' Donnell, and M. M. Scandiani. 2005. Sudden death syndrome of soybean in South America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*, and *F. virguliforme*. *Mycoscience* 46: 162–183.
- Batista, D., D. N. Silva, A. Vieira, A. Cabral, A. S. Pires, A. Loureiro, L. Guerra-Guimarães, A. P. Pereira, H. Azinheira, P. Talhinhos, M. C. Silva, and V. Várzea. 2017. Legitimacy and implications of reducing *Colletotrichum kahawae* to subspecies in plant pathology. *Front. Plant Sci.* 7: 2051.
- Batson, A. M., L. Fokkens, M. Rep, and L. J. du Toit. 2020. Putative effector genes distinguish two pathogenicity groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 34: 141–156.
- Biju, V. C., L. Fokkens, P. M. Houterman, M. Rep, and B. J. Cornelissen. 2017. Multiple evolutionary trajectories have led to the emergence of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Appl. Environ. Microbiol.* 83: e02548–16.
- Bilodeau, G. J., C. A. Lévesque, A. W. A. M. de Cock, C. Duchaine, S. Brière, P. Uribe, F. N. Martin, and R. C. Hamelin. 2007. Molecular detection of *Phytophthora ramorum* by real-time polymerase chain reaction using TaqMan, SYBR Green, and molecular beacons. *Phytopathology* 97: 632–642.
- Bluhm, B., J. Flaherty, M. Cousin, and C. Woloshuk. 2002. Multiplex polymerase chain reaction assay for the differential detection of trichothecene- and fumonisin-producing species of *Fusarium* in cornmeal. *J. Food Prot.* 65: 1955–1961.
- Bottalico, A., and G. Perrone. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and Mycotoxins Associated with Head Blight in Small-Grain Cereals in

- Europe. Eur. J. Plant. Pathol. 108: 611–624.
- Bruce, A., D. Bray, A. Johnson, J. Lewis, M. Rass, K. Roberts, and P. Walter. 1999.** Fundamentos da biologia celular: uma introdução à biologia molecular da célula. Porto Alegre: Artmed.
- Burkhardt, A., P. M. Henry, S. T. Koike, T. R. Gordon, and F. Martin. 2019.** Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* from infected strawberry plants. Plant Dis. 103: 1006–1013.
- Cannon, P. F., A. G. Buddie, and P. D. Bridge. 2008.** The typification of *Colletotrichum gloeosporioides*. Mycotaxon 104: 189–204.
- Carvalhais, L. C., J. Henderson, V. A. Rincon-Florez, C. O' Dwyer, E. Czislowski, E. A. B. Aitken, and A. Drenth. 2019.** Molecular Diagnostics of Banana Fusarium Wilt Targeting *Secreted-in-Xylem* Genes. Front. Plant Sci. 10: 547.
- Chen, G. Y., C. P. Wu, B. Li, H. Su, S. Z. Zhen, and Y. L. An. 2010.** Detection of *Leptosphaeria maculans* from imported Canola seeds. J. Plant Dis. Prot. 117: 173–176.
- Chen, Z., X. Liu, Q. Zhang, and B. Li. 2016.** Rapid and visual detection of *Colletotrichum gloeosporioides* on *Anoectochilus* using loop-mediated isothermal amplification assay. Int. J. Phytopathol. 5: 99–106.
- Chiocchetti, A., I. Bernardo, M. J. Daboussi, A. Garibaldi, M. L. Gullino, T. Langin, and Q. Migheli. 1999.** Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in carnation tissue by PCR amplification of transposon insertions. Phytopathology 89: 1169–1175.
- Czislowski, E., S. Fraser-Smith, M. Zander, W. T. O'Neill, R. A. Meldrum, L. T. T. Tran-Nguyen, J. Batley, and E. A. B. Aitken. 2018.** Investigation of the diversity of effector genes in the banana pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, reveals evidence of horizontal gene transfer. Mol. Plant Pathol. 19: 1155–1171.
- Czislowski, E., I. Zeil-Rolfe, and E. A. Aitken. 2021.** Effector profiles of endophytic *Fusarium* associated with asymptomatic banana (*Musa* sp.) hosts. Int. J. Mol. Sci. 22: 2508.
- Daboussi, M. J., and T. Langin. 1994.** Transposable element in the fungal plant pathogen *Fusarium*

- oxysporum*. *Genetica* 93: 49–59.
- Daher, R. K., G. Stewart, M. Boissinot, D. K. Boudreau, and M. G. Bergeron, 2015. Influence of sequence mismatches on the specificity of recombinase polymerase amplification technology. *Mol. Cell Probes*. 29: 116–121.
- Dombrink-Kurtzman M. A., and A. E. McGovern. 2007. Species-specific identification of *Penicillium* linked to patulin contamination. *J. Food Protect.* 70: 2646–2650.
- Dorner, J. W., R. J. Cole, and U. L. Diener. 1984. The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid. *Mycopathologia* 87: 13–15.
- Du, R., T. Luo, J. Zhang, L. Yang, M. Wu, and G. Li. 2021. LAMP detection of the blackleg pathogen *Leptosphaeria biglobosa* 'canadensis'. *Crop Prot.* 145: 105610.
- Edel-Hermann, V., and C. Lecomte. 2019. Current status of *Fusarium oxysporum formae speciales* and races. *Phytopathology* 109: 512–530.
- Faino, L., M. F. Seidl, X. Shi-Kunne, M. Pauper, G. C. van den Berg, A. H. Wittenberg, and B. P. Thomma. 2016. Transposons passively and actively contribute to evolution of the two-speed genome of a fungal pathogen. *Genome Res.* 26: 1091–1100.
- Feau, N., D. I. Ojeda, S. Beauseigle, G. J. Bilodeau, A. Brar, S. Cervantes-Arango, A. L. Dale, B. Dhillon, C. Hammett, P. Herath, S. F. Shamoun, C. K. M. Tsui, P. Tanguay, and R. C. Hamelin. 2019. Improved detection and identification of the sudden oak death pathogen *Phytophthora ramorum* and the Port Orford cedar root pathogen *Phytophthora lateralis*. *Plant Pathol.* 68: 878–888.
- Fernando, W. D., X. Zhang, and C. C. Amarasinghe. 2016. Detection of *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* causing blackleg disease in canola from Canadian canola seed lots and dockage. *Plants* 5: 12.
- Gallagher, R. T., J. L. Richard, H. M. Stahr, and R. J. Cole. 1978. Cyclopiazonic acid production by aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. *Mycopathologia*

66: 31–36.

Ghosh, R., A. Nagavardhini, A. Sengupta, and M. Sharma. 2015. Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay for rapid detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*-wilt pathogen of chickpea. BMC Res. Notes 8: 1–10.

Gilardi, G., S. Franco Ortega, P. C. J. Van Rijswijk, G. Ortu, M. L. Gullino, and A. Garibaldi. 2017. A new race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* of lettuce. Plant Pathol. 66: 677–688.

Gordon, T. R., A. J. Storer, and D. L. Wood. 2001. The pitch canker epidemic in California. Plant Dis. 85: 1128–1139.

Herron, D. A., M. J. Wingfield, B. D. Wingfield, C. A. Rodas, S. Marincowitz, and E. T. Steenkamp. 2015. Novel taxa in the *Fusarium fujikuroi* species complex from *Pinus* spp. Stud. Mycol. 80: 131–150.

Hieno, A., M. Li, A. Afandi, K. Otsubo, H. Suga, and K. Kageyama. 2020. Detection of the genus *Phytophthora* and the species *Phytophthora nicotianae* by LAMP with a QProbe. Plant Dis. 104: 2469–2480.

Hirano, Y., and T. Arie. 2006. PCR-based

differentiation of *Fusarium oxysporum* ff. sp. *lycopersici* and *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. J. Gen. Plant Pathol. 72: 273–283.

Hossain, M. A., M. S. Hossen, and M. R. Karim. 2020. Molecular markers: Indispensable tools for genetic diversity analysis and crop improvement biotechnology. Int. J. Plant Breed. Crop. Sci. 7: 613–623.

Hossain, M. R., M. J. Ferdous, M. I. J. Denison, J. I. Park, H. J. Jung, H. T. Kim, and I. S. Nou. 2021. Whole-genome alignment-based development of molecular markers for detecting *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa*, the causal agents of blackleg disease in Brassicas. J. Phytopathol. 169: 283–294.

Houterman, P. M., D. Speijer, H. L. Dekker, C. G. de Koster, B. J. Cornelissen, and M. Rep. 2007. The mixed xylem sap proteome of *Fusarium oxysporum*-infected tomato plants. Mol. Plant Pathol. 8: 215–221.

Houterman, P. M., B. J. Cornelissen, and M. Rep. 2008. Suppression of plant resistance gene-based immunity by

- a fungal effector. *PLoS Pathogens*. 4: e1000061.
- Houterman, P. M., L. Ma, G. Van Ooijen, M. J. De Vroomen, B. J. Cornelissen, F. L. Takken, and M. Rep. 2009. The effector protein *Avr2* of the xylem-colonizing fungus *Fusarium oxysporum* activates the tomato resistance protein I-2 intracellularly. *Plant J*. 58: 970–978.
- Hsieh, W. H., S. N. Smith, and W. C. Snyder. 1977. Mating groups in *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology* 67: 1041–1043.
- Ivanov, A. V., I. V. Safenkova, A. V. Zherdev, and B. B. Dzantiev. 2021. The potential use of isothermal amplification assays for in-field diagnostics of plant pathogens. *Plants* 10: 2424.
- Jangir, P., N. Mehra, K. Sharma, N. Singh, M. Rani, and R. Kapoor. 2021. Secreted in Xylem Genes: Drivers of Host Adaptation in *Fusarium oxysporum*. *Front. Plant Sci.* 12: 628611.
- Jenkins, S., A. Taylor, A. C. Jackson, A. D. Armitage, H. J. Bates, A. Mead, R. A. Harrison, and J. P. Clarkson. 2021. Identification and expression of *Secreted in xylem* pathogenicity genes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Front Microbiol.* 12: 788.
- Johnston, P. R., S. R. Pennycook, and M. A. Manning. 2005. Taxonomy of fruit-rotting fungal pathogens whats really out there? *N. Z. Plant Prot.* 58: 42–46.
- Katoh, H., T. Fukuda, H. Nishigawa, and T. Natsuaki. 2016. Rapid detection of *Colletotrichum gloeosporioides* in infected strawberry plants using loop-mediated isothermal amplification. *J. Gen. Plant Pathol.* 82: 190–198.
- Katoh, H., S. Yamazaki, T. Fukuda, S. Sonoda, H. Nishigawa, and T. Natsuaki. 2021. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* by using loop-mediated isothermal amplification. *Plant Dis.* 105: 1072–1079.
- Kim, H., S. M. Hwang, J. H. Lee, M. Oh, J. W. Han, and G. J. Choi. 2017. Specific PCR detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*: a causal agent of Fusarium wilt on radish plants. *Lett. Appl. Microbiol.* 65: 133–140.
- Kuhlman, E. G. 1982. Varieties of

- Gibberella fujikuroi* with anamorphs in *Fusarium* section *Liseola*. Mycologia 74: 759–768.
- Lan, C., H. Ruan, X. Yang, J. Yao, and J. Jiang. 2018. Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for sensitive and specific detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* Owen. Phytoparasitica 46: 283–293.
- Lau, H. Y., and J. R. Botella. 2017. Advanced DNA-based point-of-care diagnostic methods for plant diseases detection. Front. Plant Sci. 8: 2016.
- Leonard, K. J., and W. R. Bushnell. 2003. *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley*. American Phytopathological Society, USA, 512 pages.
- Lievens, B., M. Rep, and B. P. Thomma. 2008. Recent developments in the molecular discrimination of *formae speciales* of *Fusarium oxysporum*. Pest Manag. Sci. 64: 781–788.
- Lievens, B., P. M. Houterman, and M. Rep. 2009. Effector gene screening allows unambiguous identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races and discrimination from other *formae speciales*. FEMS Microbiol. Lett. 300: 201–215.
- Li, E., G. Wang, J. Xiao, J. Ling, Y. Yang, and B. Xie. 2016. A *SIX1* homolog in *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* is required for full virulence on Cabbage. PloS One 11: e0152273.
- Li, K. N., D. I. Rouse, E. J. Eyestone, and T. L. German. 1999. The generation of specific DNA primers using random amplified polymorphic DNA and its application to *Verticillium dahliae*. Mycol. Res. 103: 1361–1368.
- Lin, W. L. 2018. *Phylogenetic Species and Biological Characteristics of Mango Anthracnose Pathogens in Taiwan*. Master Thesis. National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan.
- Ling, J., J. Zhang, F. Zeng, Y. Cao, B. Xie, and Y. Yang. 2016. Comparative genomics provide a rapid detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*. J. Integr. Agric. 15: 822–831.
- Liu, S. Y., Z. Liu, B. D. Fitt, N. Evans, S. J. Foster, Y. J. Huang, A. O. Latunde-Dada, and J. A. Lucas. 2006. Resistance to *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) in *Brassica napus* (oilseed rape)

- induced by *L. biglobosa* and chemical defence activators in field and controlled environments. *Plant Pathol.* 55: 401–412.
- Lombard, L., M. Sandoval-Denis, S. C. Lamprecht, and P. W. Crous. 2019. Epitypification of *Fusarium oxysporum*—clearing the taxonomic chaos. *Persoonia* 43: 1–47.
- Luongo, L., S. Vitale, A. Haegi, and A. Belisario. 2012. Development of SCAR markers and PCR assay for *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 2-specific detection. *J. Plant Pathol.* 94: 193–199.
- Lu, X., H. Xu, W. Song, Z. Yang, J. Yu, Y. Tian, M. Jiang, D. Shen, and D. Dou. 2021. Rapid and simple detection of *Phytophthora cactorum* in strawberry using a coupled recombinase polymerase amplification–lateral flow strip assay. *Phytopathol. Res.* 3: 1–8.
- Ma, L. J., H. C. Van der Does, K. A. Borkovich, J. J. Coleman, M. J. Daboussi, A. Di Pietro, M. Dufresne, M. Freitag, M. Grabherr, B. Henrissat, P. M. Houterman, S. Kang, W. B. Shim, C. Woloshuk, X. Xie, J. R. Xu, J. Antoniw, S. E. Baker, B. H. Bluhm, A. Breakspear, D. W. Brown, R. A. E. Butchko, S. Chapman, R. Coulson, P. M. Coutinho, E. G. J. Danchin, A. Diener, L. R. Gale, D. M. Gardiner, S. Goff, K. E. Hammond-Kosack, K. Hilburn, A. Hua-Van, W. Jonkers, K. Kazan, C. D. Kodira, M. Koehrsen, L. Kumar, K. H. Lee, L. Li, J. M. Manners, D. Miranda-Saavedra, M. Mukherjee, G. Park, J. Park, S. Y. Park, R. H. Proctor, A. Regev, M. C. Ruiz-Roldan, D. Sain, S. Sakthikumar, S. Sykes, D. C. Schwartz, B. G. Turgeon, I. Wapinski, O. Yoder, S. Young, Q. Zeng, S. Zhou, J. Galagan, C. A. Cuomo, H. C. Kistler, and M. Rep. 2010. Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature* 464: 367–373.
- Manire, C. A., H. L. Rhinehart, D. A. Sutton, E. H. Thompson, M. G. Rinaldi, J. D. Buck, and E. Jacobson. 2002. Disseminated Mycotic Infection Caused by *Colletotrichum acutatum* in a Kemp' s Ridley Sea Turtle (*Lepidochelys kempi*). *J. Clin. Microbiol.* 40: 4273–4280.
- Marcelino, J., R. Giordano, S. Gouli, V. Gouli, B. L. Parker, M. Skinner, D. TeBeest, and R. Cesnik. 2008.

- Colletotrichum acutatum* var. *fiorinae* (teleomorph: *Glomerella acutata* var. *fiorinae* var. nov.) infection of a scale insect. *Mycologia* 100: 353–374.
- Maryani, N., L. Lombard, Y. S. Poerba, S. Subandiyah, P. W. Crous, and G. H. J. Kema. 2019.** Phylogeny and genetic diversity of the banana *Fusarium* wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in the Indonesian centre of origin. *Stud. Mycol.* 91: 79–99.
- Matthews, M. C., D. Mostert, P. Ndayihanzamaso, L. J. Rose, and A. Viljoen. 2020.** Quantitative detection of economically important *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* strains in Africa in plants, soil and water. *PLoS One* 15: e0236110.
- Matuo, T., and W. C. Snyder 1973.** Use of morphology and mating populations in the identification of formae speciales in *Fusarium solani*. *Phytopathology* 63: 562–565.
- McNeill, J., F. R. Barrie, W. R. Buck, V. Demoulin, W. Greuter, D. L. Hawksworth, P. S. Herendeen, S. Knapp, K. Marhold, J. Prado, W. F. Prud'homme van Reine, G. F. Smith, J. H. Wiersema, and N. J. Turland. 2012.** International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code). Gantner Verlag KG [Regnum Vegetabile no. 154].
- Miller, J. D., R. Greenhalgh, Y. Wang, and M. Lu. 1991.** Trichothecene chemotypes of three *Fusarium* species. *Mycologia* 83: 121–130.
- Morales, H., S. Marín, A. Rovira, A. J. Ramos, and V. Sanchis. 2007.** Patulin accumulation in apples by *Penicillium expansum* during postharvest stages. *Lett. Appl. Microbiol.* 44: 30–35.
- Muñoz-López, M., and J. L. García-Pérez. 2010.** DNA transposons: nature and applications in genomics. *Curr. Genomics* 11: 115–128.
- Nakajima, T. 1993.** Occurrence of soybean sudden death syndrome caused by *Fusarium solani* in Brazil. p.79. *In*: 7th International *Fusarium* Workshop, Pennsylvania State University, University Park, PA.
- Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and W. F. O. Marasas. 1983.** *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. University Park, PA: Penn State University Press. 193 pp.

- Notomi, T., H. Okayama, H. Masubuchi, T. Yonekawa, K. Watanabe, N. Amino, and T. Hase. 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 28: e63.
- O'Donnell, K., H. C. Kistler, B. K. Tacke, and H. H. Casper. 2000. Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97: 7905–7910.
- O'Donnell, K., T. J. Ward, D. M. Geiser, H. C. Kistler, and T. Aoki. 2004. Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade. *Fungal Genet. Biol.* 41: 600–623.
- Pasquali, M., F. Dematheis, M. L. Gullino, and A. Garibaldi. 2007. Identification of race 1 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* on lettuce by inter-retrotransposon sequence-characterized amplified region technique. *Phytopathology* 97: 987–996.
- Penzig, O. A. J. 1882. Funghi agrumicoli. Contribuzione allo studio dei funghi parassati degli agrumi. *Michelia* 2: 385–527.
- Phoulivong, S., L. Cai, H. Chen, E. H. C. McKenzie, K. Abdelsalam, E. Chukeatirote, K. D. Hyde. 2010. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. *Fungal Divers.* 44: 33–43.
- Piepenburg, O., C. H. Williams, D. L. Stemple, and N. A. Armes. 2006. DNA detection using recombination proteins. *PLoS Biol* 4: e204.
- Ploper, D. 1993. Síndrome de la muerte súbita: nueva enfermedad de la soja en el noroeste argentino. *Avance Agroindustrial* Año 13: 5–9.
- Ploper L. D., J. T. Yorinori, and W. Morel Paiva. 2003. Importancia de las enfermedades de la soja en el Mercosur. p. 163–174. *In*. Actas Simposio Internacional sobre Soja, XI Congreso de AAPRESID, Rosario, Argentina, August 26–29, Tomo II. (in Spanish).
- Rep, M., H. L. Dekker, J. H. Vossen, A. D. de Boer, P. M. Houterman, D. Speijer, J. W. Back, C. G. De Koster, and B. J. Cornelissen. 2002. Mass

- spectrometric identification of isoforms of PR proteins in xylem sap of fungus-infected tomato. *Plant Physiol.* 130: 904–917.
- Rep, M., H. C. Van der Does, M. Meijer, R. van Wijk, P. M. Housterman, H. L. Dekker, C. G. de Koster, and B. J. C. Cornelissen. 2004.** A small, cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* during colonization of xylem vessels is required for *I-3*-mediated resistance in tomato. *Mol. Microbiol.* 53: 1373–1383.
- Reynolds, D. R. 1993.** The fungal holomorph: An overview. p. 15–25. *In*: The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics. (D. R. Reynolds and J. W. Taylor, Eds.), CAB International, Wallingford, UK. 375 pp.
- Rouxel, T., and M. H. Balesdent. 2017.** Life, death and rebirth of avirulence effectors in a fungal pathogen of Brassica crops, *Leptosphaeria maculans*. *New Phytol.* 214: 526–532.
- Roy, K. W. 1997.** *Fusarium solani* on soybean roots: nomenclature of the causal agent of sudden death syndrome and identity and relevance of *F. solani* form B. *Plant Dis.* 81: 259–266.
- Roy, K. W., D. E. Hershman, J. C. Rupe, and T. S. Abney. 1997.** Sudden death syndrome of soybean. *Plant Dis.* 81: 1100–1111.
- Safenkova, I. V., A. V. Ivanov, E. S. Slutskaya, A. V. Samokhvalov, A. V. Zherdev, and B. B. Dzantiev. 2020.** Key significance of DNA-target size in lateral flow assay coupled with recombinase polymerase amplification. *Anal. Chim. Acta.* 1102: 109–118.
- Sarver, B. A., T. J. Ward, L. R. Gale, K. Broz, H. C. Kistler, T. Aoki, P. Nicholson, J. Carter, and K. O'Donnell. 2011.** Novel *Fusarium* head blight pathogens from Nepal and Louisiana revealed by multilocus genealogical concordance. *Fungal. Genet. Biol.* 48: 1096–107.
- Sasaki, K., K. Nakahara, M. Shigyo, S. Tanaka, and S. I. Ito. 2015.** Detection and quantification of onion isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* in onion plant. *J. Gen. Plant Pathol.* 81: 232–236.
- Schmidt, S. M., P. M. Housterman, I. Schreiver, L. Ma, S. Amyotte, B.**

- Chellappan, S. Boeren, F. L. Takken, and M. Rep. 2013. MITEs in the promoters of effector genes allow prediction of novel virulence genes in *Fusarium oxysporum*. BMC Genomics 14: 119.
- Schrader, C., A. Schielke, L. Ellerbroek, and R. Johne. 2012. PCR inhibitors—occurrence, properties and removal. J. Appl. Microbiol. 113: 1014–1026.
- Schwenkbier, L., S. Pollok, S. König, M. Urban, S. Werres, D. Cialla-May, K. Weber, and J. Popp. 2015a. Towards on-site testing of *Phytophthora* species. Anal. Methods 7: 211–217.
- Schwenkbier, L., S. Pollok, A. Rudloff, S. Sailer, D. Cialla-May, K. Weber, and J. Popp. 2015b. Non-instrumented DNA isolation, amplification and microarray-based hybridization for a rapid on-site detection of devastating *Phytophthora kernoviae*. Analyst 140: 6610–6618.
- Shamim, M., P. Kumar, R. R. Kumar, M. Kumar, R. R. Kumar, and K. N. Singh. 2017. Assessing fungal biodiversity using molecular markers. p. 305–333. *In: Molecular Markers in Mycology. Fungal Biology*. Springer, Cham. *in: Rice Precision Farming System*. (Singh, B. P. and V. K. Gupta, eds.) Taiwan Springer, Cham. Switzerland. 361 pp.
- Shen, C. H. 2019. Chapter 9 Amplification of Nucleic Acids. *Diagnostic Molecular Biology*. Cambridge, MA: Academic Press: 215–247.
- Shivas, R. G., Y. P. Tan, J. Edwards, Q. Dinh, A. Maxwell, V. Andjic, J. R. Liberato, C. Anderson, D. R. Beasley, K. Bransgrove, L. M. Coates, K. Cowan, R. Daniel, J. R. Dean, M. F. Lomavatu, D. Mercado-Escueta, R. W. Mitchell, R. Thangavel, L. T. T. Tran-Nguyen, and B. S. Weir. 2016. *Colletotrichum* species in Australia. Australas. Plant Pathol. 45: 447–464.
- Shimazu, J., N. Yamauchi, T. Hibi, M. Satou, S. Horiuchi, and T. Shirakawa. 2005. Development of sequence tagged site markers to identify races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*. J. Gen. Plant Pathol. 71: 183–189.
- Short, D. P., S. Gurung, K. Maruthachalam, Z. K. Atallah, and K. V. Subbarao. 2014. *Verticillium dahliae* race 2-specific PCR reveals a high frequency of race 2 strains in commercial spinach seed lots and

- delineates race structure. *Phytopathology* 104: 779–785.
- Simbaqueba, J., A. M. Catanzariti, C. González, and D. A. Jones. 2018.** Evidence for horizontal gene transfer and separation of effector recognition from effector function revealed by analysis of effector genes shared between cape gooseberry and tomato-infecting *formae speciales* of *Fusarium oxysporum*. *Mol. Plant Pathol.* 19: 2302–2318.
- Simbaqueba, J., E. A. Rodriguez, D. Burbano-David, C. Gonzalez, and A. Caro-Quintero. 2021.** Putative novel effector genes revealed by the genomic analysis of the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *physali* (*Foph*) that infects cape gooseberry plants. *Front. Microbiol.* 11: 3615.
- Simmonds, J. H. 1968.** Type specimens of *Colletotrichum gloeosporioides* var. *minor* and *Colletotrichum acutatum*. *Qd. J. agric. Anim. Sci.* 25: 178.
- Small, W. 1926.** On the occurrences of a species of *Colletotrichum*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 11: 1-2.
- Snyder, W. C., and H. N. Hansen. 1940.** The species concept in *Fusarium*. *Am. J. Bot.* 64–67.
- Song, P. L., M. Jędryczka, W. Irzykowski, M. J. Yan, H. Y. Huangfu, L. F. Hao, Y. Y. Bao, and Z. Q. Li. 2016.** Efficient detection of *Leptosphaeria maculans* from infected seed lots of oilseed rape. *J. Phytopathol.* 164: 1097–1104.
- Sperschneider, J., D. M. Gardiner, L. F. Thatcher, R. Lyons, K. B. Singh, J. M. Manners, and J. M. Taylor. 2015.** Genome-wide analysis in three *Fusarium* pathogens identifies rapidly evolving chromosomes and genes associated with pathogenicity. *Genome Biol. Evol.* 7: 1613–1627.
- Stoneman, B. 1898.** A comparative study of the development of some anthracnoses. *Bot. Gaz.* 26: 69-120.
- Suga, H., Y. Hirayama, M. Morishima, T. Suzuki, K. Kageyama, and M. Hyakumachi. 2013.** Development of PCR primers to identify *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. *Plant Dis.* 97: 619–625.
- Takken, F., and M. Rep. 2010.** The arms race between tomato and *Fusarium oxysporum*. *Mol. Plant Pathol.* 11:

309–314.

- Talhinhas, P., and R. Baroncelli. 2021. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. *Fungal Divers.* 110: 109–198.
- Thangavelu, R., E. Edwinraj, M. Gopi, P. Pushpakanth, K. Sharmila, M. Prabakaran, M. Loganathan, and S. Uma. 2022. Development of PCR-Based Race-Specific Markers for Differentiation of Indian *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, the Causal Agent of Fusarium Wilt in Banana. *J. Fungi.* 8: 53.
- Turland, N. J., J. H. Wiersma, F. R. Barbie, W. Greuter, D. L. Hawksworth, P. S. Herendeen, S. Knapp, W-H. Kusber, D-Z. Li, K. Marhold, T. W. May, J. McNeill, A. M. Monro, J. Prado, M. J. Price, and G. F. Smith. 2018. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code). Koeltz Botanical Books. [Regnum Vegetabile 159].
- Toda, T., S. Hanesaka, K. Shishido, S. I. Fuji, and H. Furuya. 2020. Development of specific primers for *Fusarium oxysporum* causing damping off of *Lilium formolongi*. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 18: 1–6.
- Tzelepis, G., S. Bejai, M. N. Sattar, A. Schwelm, J. Ilbäck, J. Fogelqvist, and C. Dixelius. 2017. Detection of *Verticillium* species in Swedish soils using real-time PCR. *Arch. Microbiol.* 199: 1383–1389.
- Usami, T., M. Abiko, M. Shishido, and Y. Amemiya. 2002. Specific detection of tomato pathotype of *Verticillium dahliae* by PCR assays. *J. Gen. Plant Pathol.* 68: 134–140.
- Van der Does, H. C., B. Lievens, L. Claes, P. M. Houterman, B. J. Cornelissen, and M. Rep. 2008. The presence of a virulence locus discriminates *Fusarium oxysporum* isolates causing tomato wilt from other isolates. *Environ. Microbiol.* 10:1475–1485.
- Van Etten, H. D. and H. C. Kistler. 1988. *Nectria haematococca*, mating populations I and VI. *Adv. Plant. Pathol.* 6:189–206.
- Vincent, M., Y. Xu, and H. Kong. 2004. Helicase-dependent isothermal DNA amplification. *EMBO Rep.* 5: 795–800.
- Von Arx, J. A. and E. Müller. 1954. Die Gattung der amerosporen

- Pyrenomyceten. Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz 11: 1–434.
- Von Arx, J. A. 1957.** Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. Phytopathol. Z. 29: 413–468.
- Von Arx, J. A. 1970.** A revision of the fungi classified as *Gloeosporium*. Bibl. Mycol. 24: 1–203
- Von Schlechtendal, D. F. L. 1824.** Flora Berolinensis: Pars secunda: cryptogamia (Vol. 2). Ferdinandi Dümmler. 284 pages.
- Weir, B. S., P. R. Johnston, and U. Damm. 2012.** The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. Stud. Mycol. 73: 115–180.
- Widinugraheni, S., J. Niño-Sánchez, H. C. Van Der Does, P. Van Dam, F. A. García-Bastidas, S. Subandiyah, H. G. J. Meijer, H. C. Kistler, G. H. J. Kema, and M. Rep. 2018.** A *SIX1* homolog in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 contributes to virulence towards Cavendish banana. PLoS One 13: e0205896.
- Windels, C. E. 2000.** Economic and social impacts of *Fusarium* head blight: changing farms and rural communities in the Northern Great Plains. Phytopathology 90: 17–21.
- Wingfield M. J., A. Hammerbacher, R. J. Ganley, E. T. Steenkamp, T. R. Gordon, B. D. Wingfield, and T. A. Coutinho. 2008.** Pitch canker caused by *Fusarium circinatum*: a growing threat to pine plantations and forests worldwide. Australas. Plant Pathol. 37: 319–334.
- Wollenweber, H. W. 1913.** Studies on the *Fusarium* problem. Phytopathology 3: 24–50.
- Wu, C.-J., H.-K. Chen, and H.-F. Ni. 2020.** Identification and characterization of *Colletotrichum* species associated with mango anthracnose in Taiwan. Eur. J. Plant Pathol. 157: 1–15.
- Wynns, A. A., A. B. Jensen, J. Eilenberg, and I. Delalibera Júnior. 2019.** *Colletotrichum nymphaeae* var. *entomophilum* var. nov a natural enemy of the citrus scale insect, *Praelongorthezia praelonga* (Hemiptera: Ortheziidae). Sci. Agric. 77: e20180269.
- Yadav, M. K. and B. P. Singh. 2017.** Real-time polymerase chain reaction (PCR) based identification and detection of fungi belongs to genus *Fusarium*. p. 65–85. In: Molecular Markers in

Mycology. Fungal Biology. Springer, Cham. *in*: Rice Precision Farming System. (Singh, B. P. and V. K. Gupta, eds.) Taiwan Springer, Cham. Switzerland. 361 pp.

Yorinori, J. T. 1999. Situação atual das enfermidades de soja na Bolívia, Brasil e Paraguai. p. 21–25. *in*: Proceedings, Mercosoja 99, Rosario, Argentina, June.

Yorinori, J. T. 2002. Situação atual das

doenças potenciais no cone sur. p.3–6. *in*: Proceedings, II Brazilian Soybean Congress-Mercosoja, Foz do Iguazu, Brazil, June.

Yu, J., D. Shen, T. Dai, X. Lu, H. Xu, and D. Dou. 2019. Rapid and equipment-free detection of *Phytophthora capsici* using lateral flow strip-based recombinase polymerase amplification assay. Lett. Appl. Microbiol. 69: 64–70.

Molecular techniques in identification and detection of important plant pathogens

Chih-Li Wang^{1,2,3,4,*} and Huang-Hsi Chu^{1,4}

¹Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taiwan.

²Master Program for Plant Medicine and Good Agricultural Practice, National Chung Hsing University, Taiwan.

³Innovation and Development Center of Sustainable Agriculture, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan.

⁴Smart Sustainable New Agriculture Research Center (SMARTer), Taichung 402, Taiwan.

Abstract

The increasing overseas chances of pests is due to the high frequency of personnel communication and agricultural trade, which also increases the workloads of plant quarantine. Accurate and fast pest identification tools are always demanded in plant quarantine and pest control. Molecular techniques have advanced and significantly decreased the cost of DNA sequencing in recent twenty years. The DNA sequence are used as the fundamental information for the analysis of phylogenetic relationships. Multilocus sequence typing has been widely accepted in fungal classification and identification. The fungal species recognitions gradually evolve from morphologic species recognition and biological species recognition toward phylogenetic species recognition. In this manuscript we used some important species of *Colletotrichum* and *Fusarium*, the two important genera of plant pathogens, to explain the impact of phylogenetic species recognition on species concepts. We also introduce examples that applied the information of effector genes, toxin biosynthesis genes, transposons and genome in plant pathogen detection, and molecular tools that are applicable in on-site disease detection.

*Corresponding author.

E-mail: clwang@nchu.edu.tw

Key words: fungal identification, fungal detection, phylogenetic species, *Colletotrichum*,
Fusarium

分子技術在防檢疫害蟲鑑定之應用

張淑貞^{1,*}

¹ 行政院農業委員會農業試驗所應用動物組。台灣 台中市。

摘要

防檢疫害蟲的種類鑑定是後續相應措施的基本根據，在缺乏明顯形態特徵的未成熟期或僅餘蟲體殘骸時，以分子技術鑑定害蟲是唯一獲知害蟲種類的方法。隨著近代分子生物學的快速發展，應用保存生物所有遺傳訊息的 DNA 鑑定防檢疫害蟲種類，已越來越便利、可行。目前較常應用於防檢疫害蟲鑑定的分子技術有聚合酶鏈鎖反應、隨機增幅多態型-聚合酶連鎖反應、序列特徵化增幅區域、限制酶多型性分析、具種專一性之聚合酶鏈鎖反應、複合式聚合酶連鎖反應、恆溫環狀擴增法、生物晶片及 DNA 條碼等。這些方法各有優缺點，都可應用在防檢疫害蟲不同生活時期的種類鑑定。本文將就上述應用於鑑定害蟲種類之分子技術逐一介紹。隨著科學的快速進步，預期未來也將會有更新的分子技術應用在害蟲種類鑑定。

關鍵詞：分子技術、種類鑑定、聚合酶連鎖反應、DNA 條碼。

前言

DNA 儲存了生物所有的遺傳訊息，複製時會有一億分之一的錯誤機率，這些錯誤的 DNA 若不影響生物基本生命功能，就可被留存並遺傳給下一代。若這些錯誤的序列干擾到生物的功能，在物競天擇下，此個體極可能被淘汰。這些逐代累積在生物體內的 DNA 序列差異，即表現在種內個體間、族群

間的差異。而這些差異在空間、時間、生態等多方面因素的加乘下，使不同族群間達到生殖隔離時，便形成了不同種。而生命初始細胞核內的遺傳物質 DNA 皆會經過一連串的複製、分裂、分配至個體的所有細胞，所以在此個體所有細胞內的 DNA 皆完全相同，當然在個體不同生長期之 DNA 也完全相同。同種內的所有個體共享一個基因池 (gene pool)，有其獨特的遺傳物質 DNA，明顯異

*論文聯繫人

E-mail: scchang@tari.gov.tw

於其他種生物。應用分子技術檢測上述這些變異序列，即可用來區分、鑑定不同分類群的昆蟲。

昆蟲具有幾丁質外骨骼的獨特生物性，所以在其一生發育過程中，隨者體內組織器官的生長，表皮也需相應脫落、更換成更大的表皮，也衍生了多次形態的改變，這對防檢疫害蟲的種類鑑定是一大挑戰。因為傳統害蟲鑑定是以成蟲期的外部形態如翅脈、觸角等或外生殖器 (genitalia) 為鑑定依據，對於未成熟期的卵、幼蟲及蛹則較難由外部形態分辨種類。再者昆蟲種類繁多，有些種類更存在有個體間多態型的現象，增添以形態鑑定昆蟲種類的困難度。而在田間害蟲防治前，知道害蟲種類，以期能採取相應有效的防治措施；或是農產品進口時，隨貨物進來的害蟲檢疫定位，以期採取相應檢疫處理，正確的害蟲種類鑑定都是防檢疫害蟲最迫切需要解決的問題。這樣的困境隨著近代科學的快速飛躍，分子生物學蓬勃發展，相應分析的材料、儀器日新月異，應用在防檢疫害蟲鑑定上的分子技術也與時俱進，提供更快速、準確的解決方案。在這些分子技術發展過程中，其中最具革命性進步，突破分析時 DNA 量不足的關鍵技術是聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)。

聚合酶連鎖反應

聚合酶連鎖反應是仿照細胞內 DNA 複製的步驟，包括雙股 DNA 的變性分離

(90-95°C)、引子 (約 20-30 個鹼基 (base)) 的黏合 (37-65°C) 及聚合酶進行的複製延伸 (72°C) 等三個步驟的循環、增幅。PCR 技術發展初期使用萃取自大腸桿菌 *Escherichia coli* 的聚合酶，最適反應溫度為 37°C，每次循環進行到雙股 DNA 的高溫變性分離時，聚合酶就會被高溫破壞，所以每次循環都需要重加一次聚合酶，使得整個操作流程非常繁瑣，且試管中逐次累積許多被破壞的酶，亦會增加反應的不穩定性。

1985 年 Kary Mullis 將這三個反應步驟結合在同一台機器內進行，大大提升 DNA 在細胞外複製的效率 (Mullis & Faloona, 1987; Saiki *et al.* 1985)，而他也因在 PCR 技術的成就，獲得 1993 年的諾貝爾化學獎。之後在溫泉中發現耐高溫菌 *Thermus aquaticus*，並將此耐高溫的聚合酶 *Taq* DNA polymerase 應用在 PCR 中，反覆經高溫 (90-95°C) 也不容易被破壞 (Saiki *et al.* 1988)，使得 PCR 技術更加成熟可行，解決了生物遺傳物質研究中，DNA 量太少無法分析的瓶頸。因聚合酶連鎖反應可在體外大量複製 DNA，也衍生出許多相關的分子技術，帶動下一波生物遺傳研究的熱潮。

逢機增幅多態型 - 聚合酶連鎖反應 (random amplified polymorphic DNA-PCR, RAPD-PCR)

RAPD-PCR 是在未知 DNA 序列的情

況下，用一小段隨機合成的引子（約 10 個鹼基、50-80% GC），進行物種體 DNA (genomic DNA) 的 PCR。因引子長度短，且黏合溫度較低，引子會黏附上整個基因體的多個位置，PCR 增幅後的 DNA 產物片段大小多樣，經電泳、染色後呈現的電泳圖譜變化較多，可用來分析物種的種間差異，甚至是同種內不同族群間的差異，尤其是有地理隔離的不同族群間的差異。此技術在1990年首度由 Williams 等人應用在不同物種間，即人體、玉米、大豆及真菌間的 DNA 差異分析 (Williams *et al.* 1990)。在防檢疫害蟲鑑定的應用上，如鑑定區分外型極為相似的米象 (*Sitophilus oryzae* L.) 與玉米象 (*S. zeamais* Motschulsky) (Hidayat *et al.* 1996)；輔助煙草粉蝨 (*Bemisia tabaci* (Gennadius) 與銀葉粉蝨 (*B. argentifolii* Bellows & Perring) 間的差異釐清 (De Barro & Driver 1997; Guirao *et al.* 1997; 王等, 2004; Qiu *et al.* 2009)；快速鑑定斑潛蠅屬 (*Liriomyza*) 中，形態相似的 6 種斑潛蠅 (邱等, 2000)；鑑定網蝽科 Tingidae 中的 4 種網蝽 (*Corythucha arcuata* Say, *Corythucha ciliata* Say, *Stephanitis pyri* F., *Monosteira uncostata* Mulsant et Rey) (Besedina & Kil 2019)。在美洲廣泛分布的 *Oncideres* 屬的天牛幼蟲期很長，有些種類甚至可達一年，成蟲壽命則很短，加上缺乏幼蟲的型態鑑定特徵，以 RAPD-PCR 可鑑定 *Oncideres saga* (Dalman)、*O. ocularis*

(Thomson) 及 *O. ulcerosa* (Germar) 等3種天牛 (Cordeiro *et al.* 2019)。

此方法的優點是僅需要少量的 DNA，且在未知任何 DNA 序列前，即可以商品化的大量隨機引子進行 PCR，依據目的篩選具有種間或族群間差異代表的電泳圖譜。缺點則是為讓有較多的引子黏上模板 DNA，以得到最多樣的 PCR 產物增幅狀況，所以引子黏合溫度設定較低、循環數目較多，以至於 RAPD-PCR 所需時間是一般 PCR 的兩倍。而且因為引子長度較短、黏合溫度較低，所以引子對序列的專一性較低，產物不穩定、變異大，判讀不易，常要花費大量時間篩選合適的隨機引子，以期在不同個體、族群間產生穩定的電泳圖譜。而也因為此敏感特性，即使以相同的溫度、循環條件進行 PCR，但使用不同廠牌的聚合酶及 PCR 迴溫循環器，仍然很有可能獲得不同的電泳圖譜，或者只保有較明顯的產物，而新增或減少其他不同長度的產物，增加判讀的困擾。而也因此敏感特性，近年來，RAPD-PCR 多改用在分析種內族群間的差異。如伊朗南部和西南部甘蔗、玉米和水稻的重要害蟲蛀莖夜蛾 (*Sesamia nonagrioides* (Lefebvre))，即藉由 RAPD-PCR 分析其在不同地區與不同寄主作物上的族群差異 (Cheraghali *et al.* 2015)。另亦可用在寄生蜂條斑螟小繭蜂 (*Bracon hebetor* (Say)) 不同地理族群間的鑑定 (Kil *et al.* 2018)。

序列特徵化增幅區域 (sequence characterized amplified regions, SCARs)

因為 RAPD-PCR 不穩定的缺點，衍生出序列特徵化增幅區域 (SCARs) 法。此方法是篩選 RAPD-PCR 後的增幅產物，選取長度獨特、且穩定出現的片段，轉接到載體後，以商品細菌如 *E. coli* 大量增幅此片段序列，再進行定序確認序列。接續再以此片段序列設計序列較長之專一引子 (約 20-30 個鹼基)，並進行 PCR 確認此引子的專一性及增幅產物的穩定性。如蘋果上的重要檢疫害蟲蘋果蠹蛾 (*Cydia pomonella* (L.)) 在檢疫過程中，通常發現時多是在蘋果內取食的幼蟲期，可藉由 SCARs 方法輔助幼蟲的形態鑑定 (路等 2003)；光肩星天牛 (*Anoplophora glabripennis* Motschulsky) 源自中國大陸與韓國，其幼蟲曾跟隨輸入的包裝木材侵入北美洲，由各生長期、殘骸與蟲糞萃取 DNA，藉由 SCARs 方法，可區分光肩星天牛與其他 7 種相近種類的天牛 (Kethidi *et al.* 2003)；東方果實蠅 (*Bactrocera dorsalis* Hendel)、瓜實蠅 (*B. cucubita* Coquillett) 及南瓜實蠅 (*B. tau* Walker) 是台灣的 3 種主要瓜果實蠅，成蟲形態足以辨別，但是卵與幼蟲則無法區分，應用 SCARs 方法可區分這 3 種瓜果實蠅 (路等 2002)。另亦可應用在隨國際穀物買賣交易而擴散的麥蛾 (*Sitotroga cerealella* (Olivier))、外米綴蛾 (*Corcyra*

cephalonica (Stainton))、粉斑螟蛾 (*Cadra cautella* (Walker)) 及印度穀蛾 (*Plodia interpunctella* (Hübner)) 等積穀害蟲的鑑定上，先進行 RAPD-PCR，選取該種蛾的獨特 DNA 片段後，再以此序列設計專一引子，並經後續 PCR 確認其種類專一性 (Yao *et al.* 2012) (圖一)。

由此法設計之專一引子通常為 18-25 bp，較隨機引子的 10 bp 長，引子黏上模版 DNA 的序列數目較多，所以可提高 PCR 時的引子黏合溫度，藉此可提升 PCR 的專一性，減少非專一性片段的增幅，PCR 產物穩定度大為提升，也較容易判讀。而且設計專一引子的參考序列片段，是由隨機引子增幅體 DNA 而來，片段來源較多樣，生物各種間的差異可能較大，專一引子的設計較容易。但此專一引子之獲得，需先選殖 RAPD-PCR 後的產物至細菌，定序後再據此定序結果設計專一引子，相對也耗費更多發展時程、經費及人力。

限制酶多型性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 分析

RFLP 是先以 PCR 增幅特定基因片段，再以限制酶去剪切此增幅的基因片段後，所建立的電泳圖譜分析法。其原理是因每一種限制酶只固定在一段特定序列的 DNA 處 (通常是 4-6 個鹼基) 剪切，而因不同物種 DNA 序列不同，即會有不同的限制酶切位；或可用同一限制酶剪切，但剪切位置不同，切

下的 DNA 片段大小即不同。再經電泳、染色後會呈現一特有之電泳圖譜，比較其差異性，即可用來探討不同種昆蟲間的親緣關係，或鑑別其種類。如以粒線體 COI (cytochrome c oxidase subunit 1, COI) 基因之限制酶圖譜鑑別檢疫害蟲萵苣蚜 (*Nasonovia ribisnigri* (Mosley)) 及本地種桃蚜 (*Myzus persicae* (Sulzer))、豌豆蚜 (*Acyrtosiphon pisum* (Harris)) (葉等 2006)。Arneodo 等人 (2015) 以粒線體 COI 基因之限制酶圖譜鑑定入侵之棉鈴實夜蛾 (*Helicoverpa armigera* (Hübner)) 與阿根廷本土的 2 種蛾 (Arneodo *et al.* 2015)。以粒線體 COII 基因之限制酶圖譜鑑別危害園藝作物之 16 種 *Otiorynchus* 屬的象鼻蟲 (Hirsch *et al.* 2010)。以核糖體 DNA ITS1 (internal transcribed spacer 1, ITS1) 片段之限制酶圖譜鑑定檢疫根蟻刺足根蟻 (*Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze & Robin)) 及台灣本地既有害蟻羅賓根蟻 (*R. robini* Claparède)、長毛根蟻 (*R. setosus* Manson) (圖二) (劉等, 2006)；以核糖體 DNA ITS 片段之限制酶圖譜區辨常見之 *Tetranychus* 屬的葉蟬等 (Osakabe *et al.* 2002, 2008; Hurtado *et al.* 2008)。

RFLP 分析方法的優點是比 PCR 更確定物種種類。缺點是要先尋找可順利增幅出要分析片段的 PCR 引子，繼之根據序列，篩選具有辨別性的限制酶。而且實際應用時，在進行 PCR 後，還要將此 PCR 產物回收，再

以限制酶剪切，最後再以電泳分析，耗費時間較長、步驟較繁瑣，但總括來說，耗費時間較定序所需時間短。

具種專一性之聚合酶鏈鎖反應 (species-specific PCR)

以 PCR 增幅、定序特定片段的 DNA 後，針對不同物種在此段 DNA 的序列差異處，設計具種專一性引子，可經 PCR 後就區分出不同的物種。如在檢疫害蟲鑑定方面，以粒線體 COI 基因序列，設計專一引子鑑別 6 種象鼻蟲，其中李象鼻蟲 (*Conotrachelus nenuphar* (Herbst))、白喙粗吻象鼻蟲 (*Graphognathus leucoloma* (Bohernan))、新幾內亞甘蔗象鼻蟲 (*Rhabdoscelus obscurus* (Boisduval)) 等 3 種為檢疫害蟲，甘薯蟻象 (*Cylas formicarius* (Fabricius))、粉綠象鼻蟲 (*Hypomeces squamosus* (Fabricius))、台灣三月始灰象鼻蟲 (*Sympiezomias cribricollis* Kono) 則為台灣本地種 (林等 2008)。亦可以核糖體 DNA ITS1 片段序列設計專一引子，鑑定重要檢疫害蟻刺足根蟻及台灣本地既有害蟻羅賓根蟻、長毛根蟻 (劉等 2006)。擬步行蟲科 (Tenebrionidae) *Palorus* 屬是穀物的貯藏性害蟲，藉由形態鑑定無法確認其殘骸或未成熟期的種類，應用粒線體 COI 基因序列設計專一引子，可有效鑑定 *Palorus subdepressus subdepressus* (Wollaston)、*P. ratzeburgi* (Wissman) 和 *P. cerylonoides*

(Pascoe) (Lu *et al.* 2018)。

此方法之優點是專一引子建立後，一次 PCR 就可以確定此 DNA 來源是否為預期的種類，較為快速、經濟。缺點是要先篩選適合的引子 PCR 增幅出特定的 DNA 片段，定序此片段後需再比對相近物種間序列之差異處，據此找出專一引子可穩定、專一的區辨不同種類。而且相近種類越多，專一引子的設計也會越困難。若設計專一引子時，沒有納入可能會同時出現的相近物種，則專一引子的專一性就會被質疑。另因一次 PCR 僅能鑑定一個種類，若此 DNA 來源預期是 3 個相近種之一，則需分別進行 3 個專一性 PCR，操作較繁雜。

恆溫環狀擴增法 (loop-mediated isothermal amplification, LAMP)

一般 PCR 如上述需有 3 個溫度重複循環進行反應，所以需有特定的 PCR 儀器才可進行反應，因此限縮其應用場域。Notomi 等人在 2000 年提出 LAMP 方法，使用 *Bst* DNA Polymerase 在定溫 65°C 打開雙股 DNA、並增幅標的 DNA，不須經 95°C 才打開雙股 DNA。且使用特殊設計的 3 組引子: outer primers、inner primers 和 loop primers。前 2 組引子增幅後可產生具環型 (loop) 構造的長鏈狀產物，loop primers 則可以加速反應進行，1 小時內可將數個 DNA 增幅至 10^9 個 (Notomi *et al.* 2000)。增幅過程會產生大量的焦磷酸根

(pyrophosphate, PPi) 與鎂離子形成焦磷酸鎂 (magnesium pyrophosphate) 的白色沉澱物，藉此可以肉眼判斷反應是否有進行，或使用其他呈色劑如 EtBr、甲基藍、SYBR green 螢光劑等，在 UV 光下觀察判定。

葡萄根瘤蚜 (*Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch)) 危害葡萄的根部與葉片，形成蟲瘻，造成葡萄根部腐爛，是重要檢疫害蟲。Agarwal 等人 (2020) 即根據粒線體 COI 基因序列，設計 6 條引子，以 LAMP 方法鑑定葡萄根瘤蚜。Nam 等人 (2020) 則根據粒線體 NADH5 基因序列設計 6 條引子，建立 LAMP 方法鑑定穀物與玉米害蟲羅氏秘夜蛾 (*Mythimna loreyi* (Duponchel))。另針對 4 種多食性夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner)、秋行軍蟲 (*S. frugiperda* (JE Smith))、斜紋夜盜蛾 (*S. litura* (Fabricius)) 及 *S. littoralis* (Boisd.)，根據其粒線體 COI 基因序列，設計 6 條引子，建立 LAMP 鑑定方法，整個過程約 70 分鐘 (Nam *et al.* 2021)。此 LAMP 方法的優點為可以定溫進行反應，儀器相對簡單，增幅迅速，可直接以肉眼辨識反應結果，所以可在田間使用。缺點則為引子設計複雜，酵素與試劑昂貴。

複合式聚合酶鏈鎖反應 (multiplex PCR)

為了改善專一性 PCR 一次反應只能鑑定一個種類的缺點，後續研究人員嘗試在一

次 PCR 中同時放入多組專一引子，同時偵測兩種以上的 DNA 來源種類。例如以 3 種根蟻之核糖體 DNA ITS1 片段序列，設計 3 組專一引子，可分別放大 3 種根蟻，將此 3 組引子混和後同時進行一次 PCR，即可同時鑑定這 3 種根蟻，節省 3 倍的時間及耗材 (圖三) (劉等 2006)。其他如在印度有 4 種薊馬可傳播 5 種 Tospovirus 病毒，正確的鑑定薊馬種類，有助於了解病毒發生狀況，擬定相應薊馬管理策略，是防治成效的關鍵。應用粒線體 COIII 和核糖體 ITS2 片段的 DNA 序列，設計相應種類的 4 組薊馬專一引子，可分辨南黃薊馬 (*Thrips palmi* Karny)、小黃薊馬 (*Scirtothrips dorsalis* Hood)、蔥薊馬 (*T. tabaci* Lindeman) 和梳缺花薊馬 (*Frankliniella schultzei* Trybom) (Jangra et al. 2020)。

此複合式聚合酶鏈鎖反應方法之優點是可以在一次 PCR 中，同時鑑定出 2 種以上的昆蟲，應用上較為快速、有效率且更為節省經費。缺點是尋找專一引子已如前述不容易，要將所有引子混和在同一 PCR 溶液中，不會互相干擾，仍能各自增幅出專一片段，且其片段大小又可於電泳圖上清楚區別差異，此兼具符合序列差異及預期長度的專一引子，尋找時的困難程度更大。受限於該段 DNA 的特性及長度，及相近種類數目的多寡，複合式聚合酶鏈鎖反應鑑定技術的建立，總括來說更不容易。

生物晶片 (biochip)

生物晶片依偵測對象不同，分成許多類別，其中較常用於昆蟲種類鑑定的為寡核苷酸晶片 (oligonucleotide chip)。其原理是藉由 DNA 兩互補股間黏合所需的序列專一性特性，藉此判別昆蟲種類。此原理與南方墨點雜合技術的基本原理相同。發展流程則是先將標的 DNA，如粒線體 COI 基因，以 PCR 增幅、定序後，根據不同種間的序列差異處設計單股 DNA 的探針 (probe)，再將此探針點佈、固定在晶片上，此與南方墨點雜合法將體 DNA 固定在晶片上剛好相反。生物晶片在使用時，先以螢光或其他呈色反應物標定過的引子，進行特定 DNA 片段的 PCR 增幅。一方面可增加偵測的敏感度，一方面也可藉此將標的 DNA 標上螢光或其他呈色反應物，使其在與探針黏合後，在後續的呈色反應中呈色；若 PCR 增幅的標的 DNA 與探針間序列不同，則無法與探針黏合，並在後續清洗步驟時清除，無法呈色，藉此呈色與否判斷昆蟲種類。如先以粒線體的 COI、ND4 (NADH dehydrogenase subunits 4) 及 ND5 為標的基因，先設計可增幅 11 種實蠅科 (Tephritidae) 害蟲的通用簡併引子，並在引子上標定生物素 (biotin)，經由 PCR 增幅上述 3 個基因片段後，再與特定序的探針進行雜合反應，藉由晶片上出現的圓點樣態，可區分這 11 種實

蠅 (Chen *et al.* 2014)。另以核糖體 ITS1 為標的 DNA 片段，可以生物晶片區辨 15 種薊馬 (Yeh *et al.* 2015)。

用生物晶片鑑定昆蟲的優點是一片晶片可點佈上千個探針，且探針間彼此互不接觸，不會有互相干擾的狀況，理論上可同時篩檢上千種昆蟲，即可直接在一次 PCR、雜合、呈色後，判定種類，大大降低操作的時間 (路 2004)。在樣本種類、數量很多時，相對上述其他方法會更為快速。其缺點是在有限長度的 DNA 片段中，要尋找足夠差異的序列設計探針，並不容易，且此探針還要能穩定、專一的與特定種類的昆蟲 DNA 黏合，更需要經過多次的測試。且發展過程需會設計探針、將探針點佈在晶片上的設備及技術、雜合設備及呈色技術等，技術及設備門檻較高，所以生物晶片應用在昆蟲種類鑑定上的實例目前還不多見，但隨著生物晶片的基本技術、設備發展越趨成熟、簡便，前景可期。

DNA 條碼 (DNA barcode)

DNA 儲存了生物所有的遺傳訊息，不同種生物的 DNA 當然也存在著差異。應用 PCR 技術直接取得特定基因片段，再經定序取得序列，據此可以比對不同物種間的序列差異，直接區分害蟲種類。這些可代表該物種的 DNA 片段即可稱之為 DNA 條碼。常被用來當作昆蟲 DNA 條碼的基因有粒線體 DNA 的 COI、COII、Cytb (cytochrome b) 基因，核糖體 DNA 的 18S、28S。因為

粒線體 COI 基因不含內含子 (intron)，且較少有基因重組及單倍遺傳的特性 (Saccone *et al.* 1999)，以及增幅此段基因的廣效性引子較易取得，能順利增幅大部分物種的 COI 基因，而取得序列分析 (Folmer *et al.* 1994; Zhang & Hewitt 1997)，且 COI 基因相較其他粒線體基因有較多的演化訊息，所以 Hebert 等人大力推動以粒線體 COI 基因序列為生物的 DNA 條碼，並建立資料庫，形成全球生物鑑定系統 (global bioidentification system, GBS)，並進一步以粒線體 COI 基因序列分析 200 種鱗翅目近源種昆蟲的差異，證明 COI 基因的適用性 (Hebert *et al.* 2003)。

Tahir 等人則對巴基斯坦的農田害蟲，同時進行形態鑑定與 DNA 條碼建立，完成 48 種害蟲的 COI 基因定序，各約 600 bp，與形態鑑定結果比對，確認 DNA 條碼可用來鑑定農業害蟲種類 (Tahir *et al.* 2018)。Scheffer 等人 (2006) 以粒線體 COI 基因序列，區辨南美斑潛蠅 (*L. huidobrensis* (Blanchard))、非洲菊斑潛蠅 (*L. trifolii* (Burgess)) 及蔬菜斑潛蠅 (*L. sativae* Blanchard) 等入侵菲律賓的斑潛蠅。Toda 等人 (2000) 以粒線體 COI 基因序列，區辨 4 種 *Pananychnus* 屬的葉蟬。雙翅目黑翅蕈蚋科 (Sciaridae) 的 *Bradysia* 屬生活在潮濕環境，是菇類與溫室的重要害蟲，已用粒線體 COI 基因建立其中 25 種蕈蚋的 DNA 條碼，可應用於種類鑑定，尤其是缺乏明顯形

態特徵的幼蟲 (Shin *et al.* 2015)。

DNA 條碼因具有遺傳特性，本質上和物種的形態特徵相同，都可是該物種的分類特徵。傳統昆蟲分類會以多個形態特徵描述物種，DNA 條碼亦可視為該物種的特徵。以 DNA 條碼鑑定害蟲，亦可同時使用多段基因。如 Kohnen *et al.* (2009) 以粒線體 COI、COII、Cyt b 基因序列，分析 *Rhagoletis alternata* (Fallen) 和 *Carpomya schineri* (Loew) 等 2 種果實蠅的差異。Gullan *et al.* (2010) 以粒線體 COI 基因、核糖體 DNA 28S 基因及延長因子 (elongation factor 1- α , EF-1 α) 基因序列分辨粉介殼蟲 *Ferrisia* 屬中的 *Ferrisia virgata* Cockerell 及 *F. gilli* Gullan，並藉由序列資料，重新檢討其形態鑑定特徵的穩定性。

應用 DNA 條碼鑑定害蟲，可藉由直接比對 DNA 序列確認害蟲種類。優點是序列證據最直接、準確，一次可直接比對數百個鹼基，相較於PCR的引子或探針每次只能根基於數十個鹼基，DNA 條碼能提供更多的證據，另亦可在網路上的 DNA 資料庫如 NCBI 網站 (National Center for Biotechnology Information)，直接搜尋比對。缺點則是需要尋找合適的引子，以 PCR 增幅出預期的 DNA 片段，而且每一次的鑑定都要將此段 DNA 先進行 PCR 後，再回收 PCR 產物進行定序，較耗費人力、物力及時間。而且若該物種尚未有學者將序列公布

至網路資料庫中，則無法確認其種類。目前公布至網路資料庫中的序列並未經過審核，其物種正確性也須審慎求證。隨著分生技術的進步，DNA 定序技術與儀器自動化的長足進展，為物種建立 DNA 條碼已越來越容易，需要的人力與經費也越來越低。再加上資訊科技的進步，DNA 序列分析、網站資料庫功能愈漸強大，以致 DNA 條碼在害蟲物種鑑定的應用也越來越普及。

結論

隨著近代科學的快速進步，應用分子技術鑑定防檢疫害蟲，已越來越普遍。目前常用來鑑定防檢疫害蟲種類的分子技術有 8 類，包括聚合酶鏈鎖反應、縫機增幅多態型-聚合酶連鎖反應、序列特徵化增幅區域、限制酶多型性分析、具種專一性之聚合酶鏈鎖反應、複合式聚合酶鏈鎖反應、恆溫環狀擴增法、生物晶片及 DNA 條碼等。這些技術各有優缺點，視鑑定目的，可各採取相應的分子技術進行害蟲種類的鑑定、分析。其中聚合酶鏈鎖反應是其他 7 類技術的基石，聚合酶鏈鎖反應增幅目標 DNA，解決分析所需 DNA 量不足的瓶頸後，後續衍生許多分子技術鑑定害蟲種類。而隨著科學的快速進步，分析儀器的長足進展，原來耗時、耗錢的 DNA 條碼，在全球科學人努力擴展生物 DNA 條碼資料庫下，可行性與重要性日漸提升，也將是未來防檢疫害蟲種類鑑定的重要依據。

參考文獻

- 王重雄、柯俊成、劉中琪、陳秋男。2004。
利用 PCR 快速鑑定銀葉粉蝨
(*Bemisia argentifolii*) (半翅目：粉蝨科)。
台灣昆蟲 24：229-246。
- 林季瑋、呂曉玲、黃廷宇、施鈞曉、吳文哲、
張俊哲。2008。檢防疫重要性象鼻蟲的
分子鑑定。台灣昆蟲 28：43-55。
- 邱一中、吳文哲、蕭旭峰、石正人。2000。
RAPD-PCR 在六種斑潛蠅 (*Liriomyza*
spp.) (雙翅目：潛蠅科) 快速鑑定技術
之應用。中華昆蟲 20：293-309。
- 葉信廷、柯俊成、許洞慶。2006。檢被害蟲
萵苣蚜 (*Nasonovia ribisnigri*
(Mosley)) (Hemiptera: Aphididae) 鑑
定技術之建立。台灣昆蟲 26：283-293。
- 路光暉。2004。生物晶片在防疫檢被害蟲鑑
定上之應用。植物重要防疫檢被害蟲診
斷鑑定研習會 (四)。p.119-125。
- 路光暉、張君銘、陳家殷、陳昱如。2002。
台灣三種主要瓜果實蠅類害蟲之專一
性引子開發。植保會刊 44：255-265。
- 路光暉、張世忠、許昭元、楊正澤。2003。
傳統與現代昆蟲鑑定技術的結合-以蘋
果蠹蛾 (鱗翅目：捲葉蛾科) 為例。植保
會刊 45：359-364。
- 劉逸琪、張淑貞、陳文華、許永斌。2006。
應用單一步驟巢式複合式聚合酶鏈鎖
反應同步鑑定刺足根蟎、羅賓根蟎及長
毛根蟎。植保會刊 48：101-116。
- Agarwal, A., J. P. Cunningham, I.
Valenzuela and M. J. Blacket. 2020.
A diagnostic LAMP assay for the
destructive grapevine insect pest,
phylloxera (*Daktulosphaira*
vitifoliae). Sci. Rep. 10: 1-10.
- Arneodo, J. D., E. I. Balbi, F. M. Flores and
A. Sciocco-Cap. 2015. Molecular
identification of *Helicoverpa*
armigera (Lepidoptera: Noctuidae:
Heliothinae) in Argentina and
development of a novel PCR-RFLP
method for its rapid differentiation
from *H. zea* and *H. gelotopoeon*. J.
Econ. Entomol. 108: 2505-2510.
- Besedina, E. and V. Kil. 2019. Molecular-
genetic analysis of different species
of lace bugs (Heteroptera: Tingidae)
by RAPD-markers. Hortic. Vitic. 6:
21-25. (In Russ.)
- Chen, Y. H., L. Y. Liu, W. H. Tsai, D. S.
Haymer and K. H. Lu. 2014. Using
DNA chips for identification of
tephritid pest species. Pest Manag.
Sci. 70: 1254-1261.
- Cheraghali, Z., M. Esfandiari, S.
Mossadegh and H. R. Memari. 2015.
Genetic diversity of populations of
the stem borer *Sesamia*

- nonagrioides (Lepidoptera: Noctuidae) in southern and southwestern Iran, using RAPD-PCR. North-West J. Zool. 11: 70-5.
- Cordeiro, G., M. S. Cunha, C. R. Silva, I. R. Jorge, J. A. Dergam and P. S. Ferreira.** 2019. Molecular identification of three species of *Oncideres* (Coleoptera: Cerambycidae) using RAPD markers. An. Acad. Bras. Cienc. 91: e20180209.
- De Barro P, T. Sherratt, C. Brookes, O. David and N. Maclean.** 1997. Use of RAPD PCR to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). Aust. J. Entomol. 36: 149-152.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek.** 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 3: 294-299.
- Guirao, P., F. Beitia and J. Cenis.** 1997. Biotype determination of Spanish populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Bull. Entomol. Res. 87: 587-594.
- Gullan, P. J., M. B. Kaydan and N. B. Hardy.** 2010. Molecular phylogeny and species recognition in the mealybug genus *Ferrisia* Fullaway (Hemiptera: Pseudococcidae). Syst. Entomol. 35: 329-339.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball and J. R. deWaard.** 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 270: 313-321.
- Hidayat, P., T. W. Phillips and R. H. Ffrench-Constant.** 1996. Molecular and morphological characters discriminate *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and confirm reproductive isolation. Ann. Entomol. Soc. Am. 89: 645-652.
- Hirsch, J., P. Sprick and A. Reineke.** 2010. Molecular identification of larval stages of *Otiorhynchus* (Coleoptera: Curculionidae) Species based on polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis. J. Econ. Entomol. 103: 898-907.
- Hurtado, M. A., T. Ansaloni, S. Cros-Arteil, J. A. Jacas and M. Navajas.** 2008. Sequence analysis of the ribosomal internal transcribed

- spacers region in spider mites (Prostigmata: Tetranychidae) occurring in citrus orchards in Eastern Spain: use for species discrimination. *Ann. Appl. Biol.* 153: 167-174.
- Jangra, S., A. Mittal, H. Dhall, R. K. Jain and A. Ghosh.** 2020. A multiplex PCR assay for rapid identification of major tospovirus vectors reported in India. *BMC Genom.* 21: 1-8.
- Kethidi, D. R., D. B. Roden, T. R. Ladd, P. J. Krell, A. Retnakaran and Q. Feng.** 2003. Development of scar markers for the dna based detection of the Asian long horned beetle, *Anoplophora glabripennis* (Motschulsky). *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 52: 193-204.
- Kil, V. I., A. T. Balaban, E. N. Besedina, I. S. Agasieva and V. Y. Ismailov.** 2018. Identification of habrobracon hebetor populations using RAPD markers. *Russ. Agric. Sci.* 44: 449-53.
- Kohnen, A., V. Wissemann and R. Brandl.** 2009. No genetic differentiation in the rose-infesting fruit flies *Rhagoletis alternata* and *Carpomya schineri* (Diptera: Tephritidae) across central Europe. *Eur. J. Entomol.* 106: 315-321.
- Lu, Y., Y. Zhao, Z. Wang, S. Miao, F. Liu and R. N. Emery.** 2018. DNA barcoding, species-specific PCR for the identification of three stored-product pest species of genus *Palorus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 78: 32-38.
- Mullis, K. B, and F. A. Faloona.** 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 155: 335-350.
- Nam, H. Y., M. Kwon, H. J. Kim and J. Kim.** 2020. Development of a species diagnostic molecular tool for an invasive pest, *Mythimna loreyi*, using LAMP. *Insects* 11: 817.
- Nam, H. Y., J. H. Kim, S. H. Lee, D. G. Heckel and J. Kim.** 2021. Development of a lamp-based molecular species diagnosis method for four major agricultural pests in the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insects* 12: 883.
- Notomi, T., H. Okayama, H. Masubuchi, T. Yonekawa, K. Watanabe, N. Amino and T. Hase.** 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic acids Res.* 28: e63-

e63.

Osakabe, M., T. Hirose and M. Sato. 2002. Discrimination of four Japanese *Tetranychus* species (Acari: Tetranychidae) using PCR-RFLP of the inter-transcribed spacer region of nuclear ribosomal DNA. Appl. Entomol. Zool. 37: 399-407.

Osakabe, M., Y. Kotsubo, R. Tajima and N. Hinomoto. 2008. Restriction fragment length polymorphism catalog for molecular identification of Japanese *Tetranychus* spider mites (Acari: Tetranychidae). J. Econ. Entomol. 101: 1167-1175.

Qiu, B., Y. Chen, L. Liu, W. Peng, X. Li, M. Z. Ahmed, V. Mathur, Y. Du and S. Ren. 2009. Identification of three major *Bemisia tabaci* biotypes in China based on morphological and DNA polymorphisms. Prog. Nat. Sci.: Mater. Int. 19: 713-718.

Saccone, C., C. De Giorgi, C. Gissi, G. Pesole and A. Reyes. 1999. Evolutionary genomics in Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system. Gene 238: 195-209.

Saiki, R. K., D. H. Gelfand, S. Stoffel, S. J. Scharf, R. Higuchi, G. T. Horn, K. B. Mullis and H. A. Erlich. 1988. Primer-

directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 239: 487-491.

Saiki, R. K., S. Scharf, F. Faloona, K. B. Mullis, G. T. Horn, H. A. Erlich and N. Arnheim. 1985. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 230: 1350-1354.

Scheffer, S. J., M. L. Lewis and R. C. Joshi. 2006. DNA Barcoding applied to invasive leafminers (Diptera: agromyzidae) in the philippines. Ann. Entomol. Soc. Am. 99: 204-210.

Shin, S., S. Jung, K. Heller, F. Menzel, T. Hong, J. Shin, S. Lee, H. Lee and S. Lee. 2015. DNA barcoding of *Bradysia* (Diptera: Sciaridae) for detection of the immature stages on agricultural crops. J. Appl. Entomol. 139: 638-645.

Tahir, H. M., A. Noor, S. Mehmood, S. M. Sherawat and M. A. Qazi. 2018. Evaluating the accuracy of morphological identification of insect pests of rice crops using DNA barcoding. Mitochondrial DNA Part B: Resour. 3: 1220-1224.

Toda, S., M. Osakabe and S. Komazaki.

2000. Interspecific diversity of mitochondrial COI sequences in Japanese *Panonychus* species (Acari: Tetranychidae). Exp. Appl. Acarol. 24: 821-829.

Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18: 6531-6535.

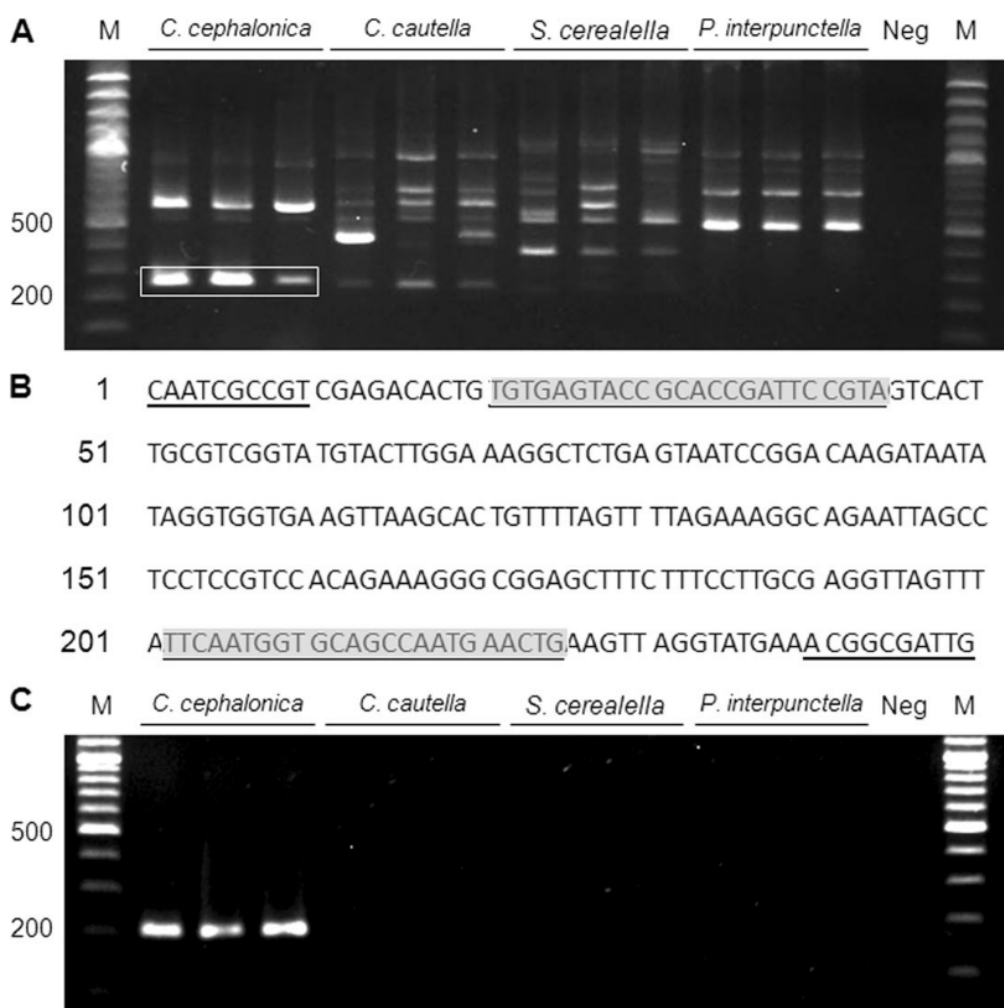
Yao, M. C., S. C. Chang, C. Y. Lee and K. H. Lu. 2012. A SCAR-based method for rapid identification of four major lepidopterous stored-product pests. J. Econ. Entomol. 105: 1100-1106.

Yeh, W., M. Tseng, N. Chang, S. Wu and Y. Tsai. 2014. Development of

species-specific primers for agronomical thrips and multiplex assay for quarantine identification of western flower thrips. J. Econ. Entomol. 107: 1728-1735.

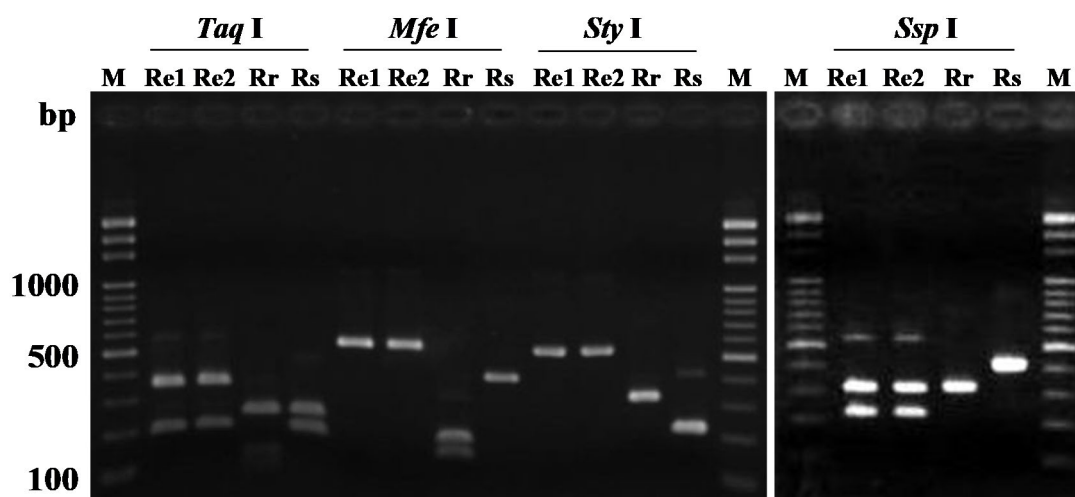
Yeh, W., M. Tseng, N. Chang, S. Wu and Y. Tsai. 2015. Agronomically important thrips: development of species-specific primers in multiplex PCR and microarray assay using internal transcribed spacer 1 (ITS1) sequences for identification. Bull. Entomol. Res. 105: 52-59.

Zhang, D. X. and G. Hewitt. 1997. Assessment of the universality and utility of a set of conserved mitochondrial COI primers in insects. Insect Mol. Biol. 6: 143-150.



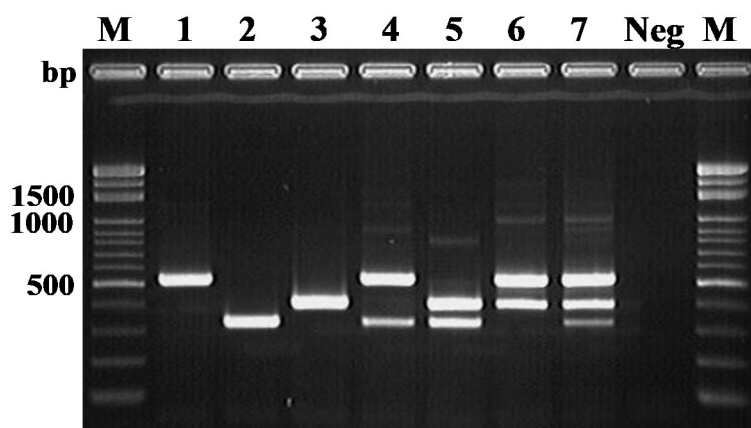
圖一、外米綴蛾以序列特徵化增幅區域法開發具蟲種專一性引子的過程 (A) 隨機引子 S-31 增幅之 RAPD 電泳圖譜; (B) 經由 RAPD-PCR 選取得之蟲種特有 DNA 片段之序列; (C) SCAR 圖譜。M 為100 bp 大小之 DNA 標準標誌。圖：姚等 (2012)。

Fig. 1. Screening for a species-specific SCAR primer for *C. cephalonica*. (A) RAPD-PCR profiles of the four examined insect species amplified with the S31 RAPD primer. The specific amplicons are boxed. (B) Sequence of the specific DNA fragment, with the sequence of the S-31 primer underlined, and the sequences of the SCAR-PCR primer pair marked with double underlines and shaded regions. (C) SCAR-PCR profiles generated using the *C. cephalonica* specific primer pair. Neg, negative control; M, 100-bp DNA markers. From Yao *et al.* (2012).



圖二、以限制酶剪切根蟎核糖體 DNA ITS1 區域之 PCR-RFLP 電泳圖譜。Re1 為來自紐西蘭鬱金香的刺足根蟎 (*Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze & Robin))。Re2 為來自荷蘭風信子的刺足根蟎。Rr 為羅賓根蟎 (*R. robini* Claparede)。Rs 為長毛根蟎 (*R. setosus* Manson)。M 為核酸標準標誌。圖：劉等 (2006)。

Fig. 2. PCR-amplified species-specific ITS1 region of rDNA from bulb mites digested with restriction enzymes. Re1, *Rhizoglyphus echinopus* from tulip of New Zealand; Re2, *R. echinopus* from hyacinth of Netherlands; Rr, *R. robini*; Rs, *R. setosus*. M, markers. From Liu *et al.* (2006).



圖三、結合一般性引子 ITS5/RNA2 與下游具種專一性引子 Re8/ Rr7/ Rs7 進行巢式複合式 PCR，以同時檢測刺足根蟻、羅賓根蟻及長毛根蟻之電泳圖。DNA 模板如下：行 1 為刺足根蟻，行 2 為羅賓根蟻，行 3 為長毛根蟻，行 4 為刺足根蟻加羅賓根蟻，行 5 為羅賓根蟻加長毛根蟻，行 6 為刺足根蟻加長毛根蟻，行 7 為刺足根蟻加羅賓根蟻加長毛根蟻。Neg 為無 DNA 對照組。M 為核酸標準標誌。圖：劉等 (2006)。

Fig. 3. DNA bands amplified from DNAs of *Rhizoglyphus echinopus*, *R. robini* and *R. setosus* using mixtures of universal primers ITS5/RNA2 and species-specific reverse primers Re8/ Rr7/ Rs7 by nested multiplex PCR. 1 = *R. echinopus*; 2 = *R. robini*; 3 = *R. setosus*; 4 = *R. echinopus* plus *R. robini*; 5 = *R. robini* plus *R. setosus*; 6 = *R. echinopus* plus *R. setosus*; 7 = *R. echinopus* plus *R. robini* plus *R. setosus*. Neg, negative control (no DNA added). M, markers. From Liu *et al.* (2006).

The application of molecular techniques on the species identification of pests

Shu-Chen Chang^{1,*}

¹Applied Zoology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

Abstract

Accurate species identification of pests is the first step in initiating species-specific treatment procedures. In the immature stage lacking obvious morphological characteristics or the wreckage of pests, the molecular technique is the only way to confirm the species of pests. With the vigorous development of molecular biology, it has become more and more convenient and feasible to use DNA to identify pest species. Here we review the molecular techniques used for the identification of pest species, including polymerase chain reaction (PCR), random amplified polymorphic DNA-PCR (RAPD-PCR), sequence characterized amplified regions (SCARs), restriction fragment length polymorphism (RFLP), species-specific PCR, multiplex PCR, loop-mediated isothermal amplification (LAMP), biochip and DNA barcode. With the rapid progress of science, it is expected that there will be newer molecular technique applications in the species identification of pests.

Key words: molecular technique, species identification, polymerase chain reaction, DNA barcode

*Corresponding author.

E-mail: scchang@tari.gov.tw

掃描式電子顯微鏡在農業昆蟲及蟎類鑑定之應用

申屠萱^{1,*} 石憲宗¹ 張淑貞¹

¹ 行政院農業委員會農業試驗所應用動物組。台灣 台中市

摘要

本文主要介紹應用掃描式電子顯微鏡 (scanning electron microscope, SEM) 研究昆蟲及蟎類的超微結構，在農業昆蟲及蟎類分類學、生理學、病理學等基礎研究具有重要意義。SEM 在昆蟲超微結構的應用，涵蓋觸角感覺器、口器感覺器及微粒體之研究，在形態研究具分類鑑定意義，在行為研究可推知偏好性，在演化研究可推知演化趨勢。SEM 在蟎類鑑定應用方面，對微小蟎體的超微結構形態檢視、分類有極大幫助，特別在屬間和種間的分類提供更清楚的區分依據。菇蟎-木耳盧西蟎 (*Luciaphorus auriculariae*) 雌蟎的顎體內縮藏於軀體，在此提出可使顎體伸出於體軀外的方法，達到以 SEM 檢視顎體表面微細構造之目的。隨著 SEM 技術及周邊影像設備的進步，期能建立一關鍵害蟲、害蟎之 SEM 影像資料庫，將有助於提升重要檢疫有害生物及新興有害生物的辨識能力。

關鍵詞：掃描式電子顯微鏡、農業昆蟲、蟎類、木耳盧西蟎、顎體

一、前言

農業昆蟲涵括農作物害蟲、農作物益蟲及資源昆蟲，農業蟎類則包括作物害蟎、倉儲害蟎及捕食性蟎類。現今昆蟲及蟎類的分類鑑定方法仍以形態特徵為主，體形較大的種類可使用解剖顯微鏡檢視外部形態，經檢索表進行分類鑑定；體形小的種類，需製成玻片

標本，以光學顯微鏡檢視其外部形態。而針對體形更微小的種類 (0.5 mm 以下) 或相似種的微細結構，掃描式電子顯微鏡(scanning electron microscope, SEM)將能針對超微結構進行檢視，做為鑑定依據。SEM 係利用電子與物質作用所產生的訊號來呈現微細結構的影像，呈真空狀態的電子槍透過熱游離或場發射原理產生高能電子束，經過電磁透

*論文聯繫人

E-mail: shentu@tari.gov.tw

鏡組後，可以將電子束聚焦來掃描樣品表面以形成影像 (蕭等 2004；羅 2013)。隨著科技進步，SEM 的解析度及操作方便性不斷提升，往昔檢視生物樣品需要經過一連串脫水、乾燥等處理，並鍍金以增加良好導電性，且在高真空環境下方可進行拍攝。SEM 技術發展至今，已有環境式掃描式電子顯微鏡 (environmental-SEM, ESEM) 和低溫電子顯微鏡 (cryogenic-EM, Cryo-EM)，在低真空或低溫的環境下，可直接觀察新鮮的生物材料，更為簡便。SEM 技術在生物材料前處理方面，也有一些突破，如郭等 (2021) 提出以離子液體當作樣品的前處理試劑應用在非導體、含水以及生物材料中，用於取代傳統的濺鍍金屬層，如發展成熟，其簡便、快速的方法，更提升 SEM 的應用性。再者，SEM 成像技術結合數位影像技術，發展影像辨識系統等多元化應用亦具潛力，應用範圍甚廣。SEM 技術在農業昆蟲及蟎類的研究，不僅應用於超微結構形態分類，對於其分類學、生理學及作物防治亦具有重要意義，本文主要介紹 SEM 應用在昆蟲超微結構觀察、蟎類形態分類及超微結構檢視，與在其他方面的應用。

二、SEM 在昆蟲超微結構的應用

(一) 觸角感覺器 (antennal sensilla)

感覺器是昆蟲體壁表皮特化的結構，具有感知各種環境刺激的重要功能。觸角是各種感覺器最富集的器官之一，在觸角上，常著

生不同類型的感覺器，在寄主選擇、取食、配偶吸引、產卵、防禦和遷徙等功能上扮演重要角色。當性費洛蒙成為應用在生物防治上的重要方法之一時，感覺器功能研究漸為重要，更多研究開始探討感覺器與行為之關係。例如，氣味可以通過嗅覺感器檢測並引導昆蟲行為 (Schneider 1964)。鱗翅目蛾類有些種類的觸角感覺器有雌雄異型的情形，Li *et al.* (2018) 以 SEM 檢視小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 成蟲觸角，在雌成蟲找到 6 種感覺器，在雄蟲觸角則找到 7 種感覺器，相比之下，雄蟲多了 1 種感覺器，即錐形感覺器 (sensilla basiconica)，推測可能與性費洛蒙有關。成蟲觸角上最豐富和分布最廣的感覺器為 sensilla trichodea，呈毛狀，為接收來自寄主植物揮發物及性費洛蒙的嗅覺感覺器。Liu *et al.* (2021) 以 SEM 檢視椰子綴蛾 (*Opisina arenosella*) 成蟲觸角表面的感覺器，發現一種腔錐感覺器 II (sensilla coeloclnica II) 僅在雌蟲發現，推測此與雌蟲產卵選擇寄主有關。亦觀察到椰子綴蛾觸角上發現一種刺形感覺器 II (sensilla chaetica) 與其他昆蟲的刺形感器形態有區別，可能與此蛾喜歡在棕櫚植物的老葉上產卵有關。諸多分類學者以觸角附著感覺器的形狀、數量及分布樣態來探討演化趨勢，如 Shih & Yang (1996, 1997) 以 SEM 檢視稻蟲科 (Delphacidae) 81 屬 104 種、菱飛蟲科 (Cixiidae) 29 屬 50 種等觸角上的瓦楞感覺器 (sensory plaque organs) 形態與分布位置

樣態，進行分群，並推知各群之演化趨勢，在分類上具重要意義。Liu *et al.* (2021) 使用 SEM 檢視 3 種薊馬 *Odontothrips loti*、*Megalurothrips distalis*、*Sericothrips kaszabi* 的觸角感覺器，有9種形態，異種間具有相似形態及分布模式，推知它們可能在信號感知具有相似的功能。由系統發生演化角度，觸角感覺器形態差異與其分類近緣關係具相關性，*Odontothrips* 屬和 *Megalurothrips* 屬在分類上為親緣近的姊妹屬 (sister taxa)，兩者觸角感覺器形態分布相近，*Sericothrips kaszabi* 則與前兩屬差異較大。

(二) 口器感覺器 (mouthparts sensilla)

昆蟲除了觸角，在口器上亦有各類型的感覺器，在它們的行為中發揮著重要作用。Li *et al.* (2008) 以 SEM 觀察甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 幼蟲咀嚼式口器上的感覺器，推知多種感覺器與感知寄主汁液有關，其中位於幼蟲上顎鬚 (temainal maxillary palpus) 的單孔錐形感覺器 (uniporous sensilla basiconica) 具味覺功能，可感知植物特定刺激物，對於忌避物質研究用以驅蟲有應用潛力。Li *et al.* (2018) 以 SEM 檢細視小菜蛾幼蟲口器感覺器，觀察到 6 種感覺器，包括 sensilla chaetica、sensilla digitiformia、sensilla epipharyngeal、sensilla basiconica、sensilla styloconica 及 sensilla placodea，這些感覺器在其他鱗

翅目幼蟲亦有發現，但它們的形態、分布及大小會因物種不同有所差異，且這些感覺器被認為與嗅覺接收功能有關 (Albert 1980; Kent & Hildebrand 1987)。

(三) 微粒體 (brochosomes)

微粒體 (brochosomes) 為葉蟬科 (Cicadellidae) 所特有的分泌物，由馬氏管產生，具有防水功能。葉蟬分泌的微粒體會先沉積在微粒體儲存區，再被塗抹到整個體表，大量存在葉蟬科昆蟲體表的各個部位，其功能為保護葉蟬不被水分及自身分泌蜜露潤濕；Roman & Stanislav (2013) 證明葉蟬 *Alnetoidia alneti* 微粒體具有超疏水性。Dong & Huang (2013) 觀察小葉蟬亞科 (Typhlocybinae) 6 族 19 種葉蟬之微粒體儲存區的超微結構，依呈現形態將其分為 3 種類型，並與其生活環境比對，歸納其形態類型與生活環境有關係；例如寄主分布於草原者，其分布體表的微粒體較多且儲存區明顯。Lu & Yang (2011) 以 SEM 檢視大青葉蟬 (*Cicadella viridis*) 的卵、若蟲、成蟲上都觀察到形狀類似的球狀微粒體，且雌雄間無差異，在卵上面的微粒體則多為棒狀或絲狀，應與降低寄生蜂的寄生率有關。

三、SEM 在農業蟎類鑑定之應用

蟎蟬係屬蛛型綱、蟎蟬亞綱，體型小，生存在各式各樣的環境之中 (Krantz & Walter 2009)，在農作物上常見的害蟎有葉蟎、節蟎、

細蟎、粉蟎、菇蟎等。危害農作物上的蟎類體形通常微小，大約 0.2~0.5 mm。側多食細蟎 (*Polyphagotarsonemus latus*) 又稱茶細蟎，取食多種農作物的新芽及葉片，造成新芽皺縮卷曲 (黃 2016)；番茄刺皮瘿蟎 (*Aculops lycopersici*) 刺吸番茄葉片、莖部、果柄和果實，造成整葉枯萎；茭白筍捲葉節蟎 (*Acaralox* sp.) 刺吸茭白筍葉片汁液，造成卷葉 (申屠等 2020)；帕尼盧西蟎 (*Luciaphorus perniciosus*) 取食木耳菌絲及子實體 (Khaustov *et al.* 2018)。由於蟎類體型微小，肉眼難見，若從作物表現被害徵狀，常不易察覺是由蟎類引起，需以高倍數光學顯微鏡及專業經驗協助判定。因此，無論是著名的經濟害蟎或是默默無聞的新興害蟎，都需要有更精準的分類參考依據，才能在早期發現時，有效收集國內外相近種類的有害生物為害資訊，擬定合適的防治方法。蟎分類至今仍以形態為主要分類方式，近年分子生物技術的發展已可在短時間完成 DNA 定序，使種間鑑定變得更為快速。困難的是，蟎物種基因庫資料不足，使得重要害蟎或新興害蟎常缺乏 DNA 資料可供比對，仍須回到形態分類系統完成鑑定。蟎的形態分類以單毛、複毛分為寄蟎總目 (Parasitiformes) 和真蟎總目 (Acariformes)；以螯肢 (chelicerae) 具螯狀分目 (order)，以氣管位置、背板特徵分亞目 (superprder)；以螯肢、觸肢發達程度、體表背面、腹面、末端、側面、末體、各足之剛毛、足上感覺器之有無及形狀等特徵，

區分至科、屬、種 (Krantz & Waller 2009)。另外，在特定區域的體表紋路，也會列入種與種之間分類依據。蟎體以光學顯微鏡檢視蟎類外部形態特徵進行鑑定前，需要製作成玻片標本。與製作 SEM 標本相比，玻片標本更需要熟練技巧，有些種類需檢視局部特徵，更不易製作，例如葉蟎科 (Tetranychidae) 雄成蟎生殖器形態作為種間鑑定特徵，需將雄成蟎製成側面標本以檢視。玻片標本的好處是可以長久保存，對軀體柔軟的蟎體來說，製成 SEM 標本不易保存，幸有數位影像保存技術可彌補此缺點。大部分農業害蟎的體形小，體表的超微結構若能以 SEM 檢視，將會更清楚，例如顎體及足上的剛毛、感覺器形狀。因此，在蟎分類有檢視超微結構的需求時，SEM 可提供更清楚的形態觀察證據。以下就蟎形態結構簡要說明，並舉例可用 SEM 檢視的超微結構。

(一) 顎體 (gnathosoma)

蟎類的體軀是由顎體 (gnathosoma) 和軀體 (idiosoma) 構成，顎體是蟎類外部形態最複雜的部份，位於軀體前端，具有螯肢 (chelicera) 及觸肢 (pedipalp) 各 1 對，有口下板 (hypostome) 及頭蓋 (tectum) 各 1 塊，其形態皆可為分類依據。螯肢與觸肢同為取食器官，大部分蟎類的螯肢成螯鉗狀，例如粉蟎。有些蟎類螯肢變形特化，例如葉蟎的螯肢變形特化為單一的口針鞘 (stylophore)，鞘內附有鞭狀的針，葉蟎用此口針刺傷植物，

吸取汁液；矮蒲蟎科 (Pygmephoridae) 的螯肢退化成一上蓋，其上螯肢剛毛為種間分類依據。觸肢位於螯肢外方或後方，主要功能是尋找、捕捉和把握食物，由 6 個可動節—轉節 (trochanter)、腿節 (femur)、膝節 (genu)、脛節 (tibia)、跗節 (tarsus) 組成，變化性大，跗節常退化為爪狀，葉蟎科觸肢的跗節與脛節爪癒合為拇爪複合體，矮蒲蟎科的盧西蟎屬 (*Luciaphorus*) 亦具有此構造 (圖 4G)，可能具把握食物的功用。

(二) 剛毛 (seta)

剛毛分布於蟎類體表，也分佈在各足上，依功能可分為觸覺毛 (tactile setae)、感覺毛 (solenidia)、芥毛 (famuli)、盅毛 (trichobothria，又稱假氣門器)；依形狀分為絲狀、鞭狀、葉狀、棒狀等多種形狀。由於剛毛是蟎類體表更細微的結構，常用在屬和種的分類，例如粉蟎科 (Acaridae) 的食酪蟎屬 (*Tyrophagus*) 和干向酪蟎 (*Tyrolichus casei*) 以體軀背毛與側毛的長度來區分屬，小異蟎科 (Microdispidae) 以後體背毛 (dorsal hysterosomal seta) 形態來區分 *Reductodispus* 及 *Tubulodispus* 兩屬 (Khaustov 2018)，背毛的形狀如細長、粗壯、呈細刺等，亦為種間分類依據。

(三) 足 (leg)

蟎類的足分為基節、轉節、腿節、膝節、脛節、跗節，跗節末端通常為爪狀或吸盤狀，

有多種變異，例如節蟎科的跗節末端具羽狀爪 (featherclaw, or empodium)，為單羽或複羽，支數不等 (圖 1)，為節蟎重要的分類依據，例如節蟎科的斜節蟎屬 (*Acaralox*) 的 *A. bagnari* 前背盾線條與 *A. croatiae* 相近 (Ripka 2015; Skoracka *et al.* 2009)，跗節羽爪同樣有 7 個分支，但形態明顯不同。蟎類足上的剛毛及感覺棒，屬於更超微的結構，高倍率光學顯微鏡檢視放大倍數僅 1,000 倍，且標本必須扁平，SEM 可以放大至數萬倍，且可看出其立體結構。例如在粉蟎科的根蟎屬 (*Rhizoglyphus*) 足 I 跗節背毛為錐狀，嗜木蟎屬 (*Caloglyphus*) 的跗節背毛為細長剛毛，可區分此兩屬 (李 & 沈 2016)。

(四) 背盾 (pordorsal shield)

為節蟎總科 (Eriophyoidea) 特有分類特徵，即位於口喙上方的骨板，背盾線條常為種的分類特徵。節蟎通常會做成玻片標本檢視背盾線條，節蟎的背盾被覆有臘粉，玻片標本看不出被覆臘粉形態，因此節蟎研究學者常會以 SEM 標本檢視背盾構造，作為分類依據。例如茭白筍捲葉節蟎的背盾，分別以實體光學顯微鏡觀察新鮮蟎體、以光學顯微鏡觀察蟎體玻片標本、以 SEM 檢視鍍金標本等拍攝圖像，更清楚其構造形態 (圖 2)。除了前述觀看昆蟲、蟎類各細部特徵，SEM 亦有一些具突破性的觀察，例如蒲蟎科的 *Pyemotes herfsi* 以 SEM 冷凍載台拍攝雌蟎的膨腹體 (physogastric) (圖 3)，對於非扁

平式的生物可做更細緻的觀察 (Broce *et al.* 2006)。Maketon *et al.* (2008) 應用 SEM 觀察一種綠僵菌 *Metarhizium anisopliae* 感染多食細蟪的過程，比光學顯微鏡更能詳觀從分生孢子接觸蟪體、孢子萌發、菌絲體滲入蟪體、定殖、再產生分生孢子的現象，呈現蟲生真菌感染細蟪的過程。筆者在研究一種木耳害蟪—盧西蟪時，為進行形態鑑定，將雌成蟪製成玻片標本，原本縮藏在體軀前體內的顎體，使用蓋玻片擠壓可使顎體自體軀伸出，便可在光學顯微鏡下檢視其顎體結構，但是製作成 SEM 標本時，顎體不會伸出，無法以 SEM 檢視其顎體。乳酸(lactic acid) 是酸性腐蝕劑，在高溫中有助於蟪體內的血液及大量色素被擠壓出來，以達到軟化及透化 (陳 2002)。筆者嘗試以乳酸浸泡盧西蟪蟪體並以高溫加熱，觀察是否有助於使顎體伸出軀體，以便進行 SEM 觀察。

四、應用 SEM 觀察木耳盧西蟪顎體之方法

供試蟲體為木耳盧西蟪 (*L. auriculariae*)，以毛筆挑取雌成蟪之新鮮蟪體 20 隻，置於凹槽玻片上，加入 85% 乳酸 (J.T. Baker, USA) 浸泡 10 分鐘，再放到加熱板上加熱。加熱條件設定如下：100°C 各加熱 30 s、60 s、90s、120 s，觀察顎體是否自體軀內伸出。另以毛筆挑取浸泡於酒精的蟪體，置於凹槽玻片上，加入 85% 乳酸浸泡 10 分鐘，再放到加熱板上，再以 100°C 各加熱 30 s、60 s、90s、120 s、150 s。將

伸出顎體的蟪體置於 15 mm 載台，以 20 mA 鍍金 60 s，以 SEM (Hitachi SU-3900, Japan) 檢視顎體上的螯肢、觸肢及附著表面的剛毛、感覺器。

五、應用 SEM 觀察木耳盧西蟪顎體之

結果及討論

將新鮮的木耳盧西蟪蟪體浸泡在乳酸內，並以 100°C 加熱 2 分鐘時，顎體便自體軀內伸出。將蟪體浸泡 70% 酒精一段時間後，浸泡在乳酸內並加熱時，以 100°C 加熱需 150 s，顎體可自體軀內伸出，比新鮮蟪體略慢。於上述結果可知此方法適用新鮮蟪體及經酒精浸泡後的個體。

圖 4 為木耳盧西蟪經鍍金後，以 SEM 檢視其顎體背面的螯肢剛毛 cha、chb 及觸肢剛毛 dFe、dGe，顎體腹面的附生結構 (accessory setigenous structure, ass)、感棒 (solenidia, sol)、頭下剛毛 (scbcapitular setae)。與另一種帕尼盧西蟪 (*L. perniciosus*) 相比，帕尼盧西蟪顎體背面缺螯肢剛毛 chb、觸肢剛毛 dFe，顎體腹面缺頭下剛毛 (Khaustov *et al.* 2018)。另一新種 *Luciaphorus* sp. 雌成蟪各部形態與木耳盧西蟪極為相似，但是體長較長，且與其體形有明顯差異，同樣具有 cha、chb、dFe、dGe。LP、LA、*Luciaphorus* sp. 顎體螯肢背面皆具有細長剛毛 cha，cha 在信號感知具有重要性。矮蒲蟪總科多種食菌蟪皆在觸肢末端

有一特化的拇爪體，其功能可能與取食真菌菌絲有關。盧西蟎屬的顎體是首次發表以 SEM 觀察表面結構及附著的剛毛與感覺器。

六、結語

在農業害蟲及害蟎的分類領域，形態分類仍然是最基礎的分類體系，對於細部特徵差異辨識能力，往往需要經驗豐富的專業學者進行判斷。分類學是一門專精的科學，也是一門藝術性科學，研究者具備相當的觀察及歸納能力。工欲善其事，必先利其器，SEM 具有高倍率放大及形態立體等優點，可凸顯出光學顯微鏡無法鑑識的超微特徵，加上現今 SEM 設備均已數位化，若結合日益發展的影像辨識技術，可發揮快速鑑識應用。未來在 SEM 的應用，可開發關鍵有害生物超微形態之區辨及技術，結合現今影像辨識的技術提升，如能建立一關鍵害蟲害蟎之 SEM 影像資料庫，將有助於提升防檢疫領域在重要檢疫有害生物及新興有害生物的辨識能力。

參考文獻

- 申屠萱、張淑貞、黃晉興。2020。茭白筍新興害蟎—茭白筍捲葉節蟎。農業世界。439:17–19。
- 李朝品、沈兆鵬主編。2016。中國粉蟎概論。科學出版社。北京。568 頁。
- 陳文華。2002。蟎蜱類的採集與標本製作。植物重要防疫檢疫害蟲診斷鑑定研習會 (二)：115–126。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。台北市。150 頁
- 郭尚甫、張庭豪、謝伊婷。2021。離子液體應用在掃描式電子顯微鏡之影像觀察。化學。79: 33–43。
- 黃秀雯。2016。設施栽培內茄科與葫蘆科側多食細蟎之防治。臺南區農業專訊 98: 12–14。
- 蕭旭峰。2004。昆蟲超微構造在防檢疫害蟲鑑定上之應用。植物重要防疫檢疫害蟲診斷鑑定研習會 (四)：45–53。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。台北市。140 頁
- 羅聖全。2013。科學基礎研究之重要利器—掃描式電子顯微鏡 (SEM)。科學研習月刊 52：5–9。
<https://www.ntsec.gov.tw/User/Article.aspx?a=1663>。
- Albert P. J. 1980. Morphology and innervation of mouthpart sensilla in larvae of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). Can. J. Zool. 58: 842–851.
- Broce, A. B., L. Zurek, J. A. Kalisch, R. Brown, D. L. Keith, D. Gordon, and J. Weber. 2006. *Pyemotes herfsi* (Acari: Pyemotidae), a mite new to North America as the cause of bite

- outbreaks. J. Med. Entomol. 43: 610–613.
- Dong, H. and M. Huang. 2013.** Ultramorphology of the brochosoma-area in Typhlocybinae (Hemiptera: Cicadellidae). J. Northwest A and F University-Natural Science Edition 41: 85–90.
- Kent K. S. and J. G. Hildebrand. 1987.** Cephalic sensory pathways in the central nervous system of larval *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). Philo. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci. 315: 1–36.
- Khaustov, A. A., H. Shentu, and C. C. HO. 2018.** Redefinition of the genus *Luciaphorus* Mahunka, 1981 (Acari: Pygmephoridae) with redescription of *L. perniciosus* Rack, 1983 and *L. auriculariae* Gao, Zou and Jiang, 1990. Zootaxa 4369: 536–556.
- Khaustov, A. A. 2018.** First record of the genus *Neomicrodispus* (Acari: Microdispidae) from Russia with the description of a new species and a key to world genera of the family Microdispidae. Acarina. 26: 175–182.
- Krantz, G. W. and D. E. Walter, (EDS.). 2009.** A Manual of Acarology. Third Edition. Texas Tech University Press, Lubbock, Texas, 807 pp.
- Li, J. X., J. J. Wang, W. Deng, B. Yang, J. Li, and H. Liu. 2008.** Description on sensilla on the larval antennae and mouthparts of *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera, Noctuidae). Acta Zootaxonomica Sinica 33: 443–448.
- Li, Y. P., D. U. Xiao, F. F. Liu, L. I. Yin, and T. X. Liu. 2018.** Ultrastructure of the sensilla on antennae and mouthparts of larval and adult *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). J. Integr. Agric. 17: 1409–1420.
- Liu, Y. Q., J. Li, and L. P. Ban. 2021.** Morphology and Distribution of Antennal Sensilla in Three Species of Thripidae (Thysanoptera) Infesting Alfalfa Medicago sativa. Insect. 12:81 <https://doi.org/10.3390/insects12010081>
- Lu, Z. Y. and M. Yang. 2011.** Scanning electron Microscopy Observation on the Brochosomes of *Cicadella viridis*. Guizhou Agric. Sci. 39: 80–82.
- Maketon, M., P. Oeoaz-Coghlán, and J. Sinprasert. 2008.** Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) for control of broad mite

- Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae) in mulberry. Exp. Appl. Acarol. 46: 157–167.
- Rakitov, R. and S. N. Gorb. 2013.** Brochosomes protect leafhoppers (Insecta, Hemiptera, Cicadellidae) from sticky exudates. J. R. Soc. Interface. 10: 20130445.
- Ripka, G. 2015.** A new *Acarolox* species (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea) on *Verbena officinalis* L. from Hungary. Acta Zool. Adad. Sci. 61: 247–254.
- Schneider D. 1964.** Insect antennae. Annu. Rev. Entomol. 9: 103–122.
- Shih, H. T. and C. T. Yang. 1996.** Antennal sensory plaque organs of the Delphacidae (Homoptera: Fulgoroidea). Chin. J. Entomol. 16: 209–217.
- Shih, H. T. and C. T. Yang. 1997.** Antennal sensory plaque organs of the Cixiidae (Homoptera: Fulgoroidea). Chin. J. Entomol. 17: 38–40.
- Skoracka, A., A. Labrycka, and B. G. Rector. 2009.** Three new species of Eriophyoid mites (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea) from grass hosts in Croatia. Ann. Entomol. Soc. Am. 102: 12–19.
- Shih, H. T. and C. T. Yang. 1996.** Antennal sensory plaque organs of the

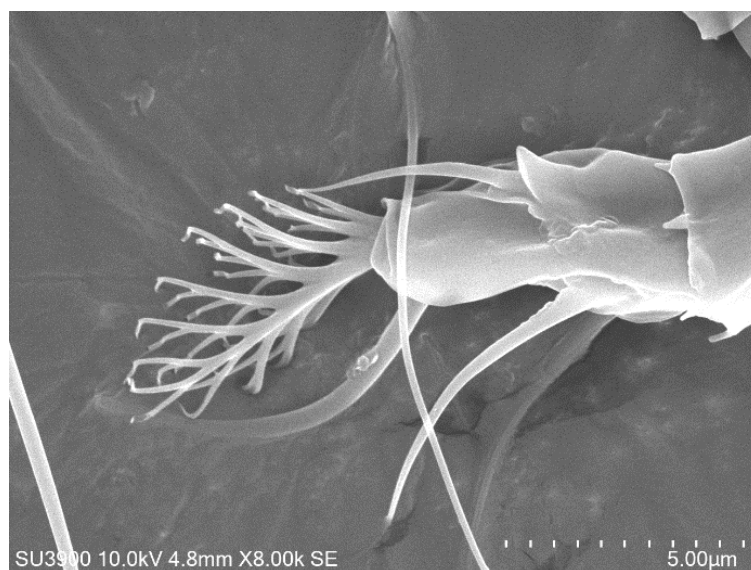


圖 1. 以 SEM 觀察茭白筍捲葉節蟎(*Acaralox* sp.)足羽狀爪，具 8–9 分叉，兩側對稱。

Fig. 1. SEM micrograph of *Acaralox* sp. female : empodium (featherclaw) of leg.



圖 2. 茭白筍捲葉節蟎雌成蟎。A: 以解剖顯微鏡觀察新鮮蟎體(放大 150 倍)；B、以光學顯微鏡觀察玻片標本(放大 400 倍)；C、以 SEM 觀察鍍金標本(放大 1100 倍)。

Fig. 2. *Acaralox* sp. female, A. Dissecting microscope (150x magnification) ; B. Optical microscope (400x magnification) ; C. SEM (1,100x magnification).

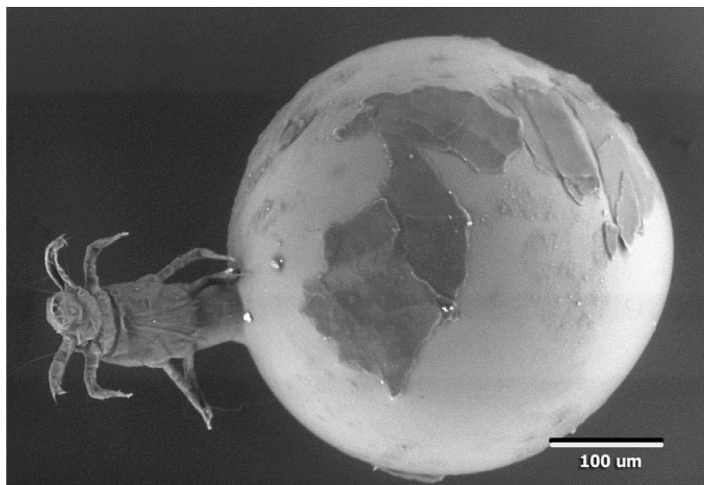


圖 3. 蒲蟎 *Pyemotidae. herfsi* 雌成蟎的膨腹體，未固定，以 SEM(Hitachi S3500N)冷凍載台進行掃描 (Broce *et al.* 2006) 。

Fig. 3. Image of a physogastric *Pyemotidae. herfsi* female, taken as a fresh, nonfixed specimen on a frozen stage of a Hitachi S3500N scanning electron microscope.(Broce *et al.* 2006)

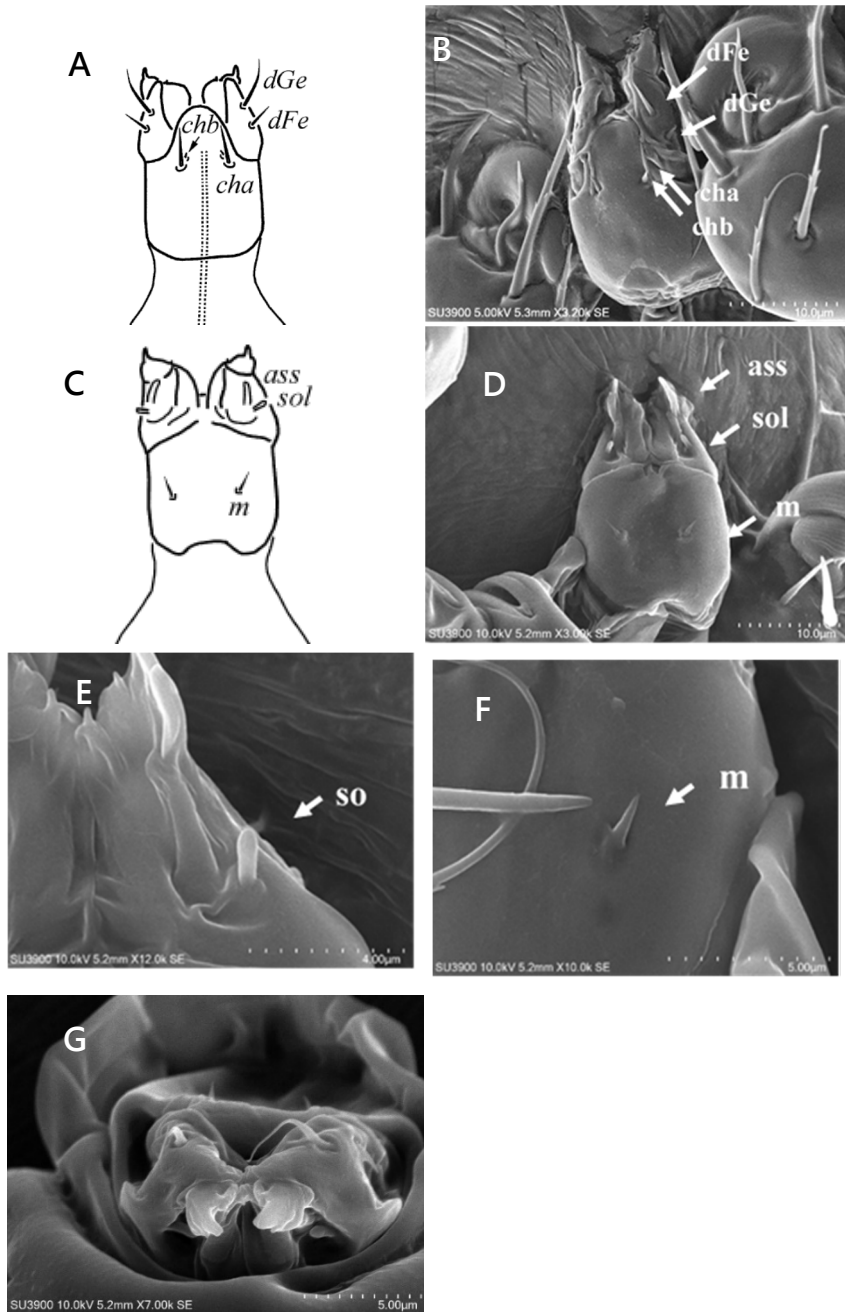


圖 4.以 SEM 檢視木耳盧西蟎顎體上的剛毛、附生結構及感棒。

Fig. 4. *Luciphorus auriculariae*, Female : A. ganthosoma dorsal; B. SEM of ganthosoma dorsal: cha, chb, dFe, dGe; C. ganthosoma ventral, D. SEM of ganthosoma ventral, ass, sol, m; E. sol ; F. m; G. ganthosoma palp claw. (Fig3A、3C Quoted from Khaustov *et al.* 2018)

Application of Scanning Electron Microscope in Identification of Agricultural Insects and Mites

Hsuan Shentu^{1,*}, Hsien-Tzung Shih¹, and Shu-Chen Chang¹

¹Applied Zoology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

Abstract

The aim of this article is to introduce the application of a scanning electron microscope (SEM) in the study of the ultrastructure of insects and mites, which is of great significance to the basic research of taxonomy, physiology, and pathology of agricultural insects and mites. The application of SEM in the ultrastructure of insects, including the study of antennal sensilla, mouthparts sensilla, and brochosomes. These structures have identification significance in taxonomy, preference, and function in behavior, and the evolutionary trend can be inferred in evolution. The identification and application of SEM on mites are of great help in the ultrastructural morphological examination and classification of microscopic mites, especially in the classification of genera and species, providing a clearer basis for differentiation. A mushroom mite, *Luciaphorus auriculariae*, the female's gnathosoma is retracted in the podosoma. This paper proposes a method to extend the mandible outside the body to observe the microstructure of the mandible surface by SEM. It is hoped that with the advancement of SEM technology and peripheral imaging equipment, establishing an SEM image database of key pests and mites will help to improve the ability to identify important quarantine and emerging pests in the field of quarantine prevention.

Key words: SEM, Agricultural Insects, Mite, *Luciaphorus auriculariae*, gnathosoma

*Corresponding author.

E-mail: shentu@tari.gov.tw

書 名：2022作物有害生物分類與鑑定技術在植物防檢疫之應用研討會專刊

發行人：林學詩

主 編：陳淑佩、蔡志濃、董耀仁、李啟陽、張淑貞

作 者 (依姓氏筆畫排序)：

王昭月、王惠雯、王智立、古家榮、申屠萱、石憲宗、安寶貞、朱皇熹、余祥
萱、呂昀陞、李奇峯、李啟陽、周俊男、林宗岐、林宗俊、林玫珠、林雅雯、
林鳳琪、翁壹姿、張淑貞、張萃嫻、郭子敬、郭彥甫、陳文華、陳君弢、陳金
枝、陳羿秀、陳啟予、陳淑佩、黃千育、黃巧雯、黃晉興、楊正澤、楊爵因、
歐玠晴、蔡佳欣、蔡偉皇、鄭櫻慧、蕭旭峰、謝方智、謝廷芳、謝孟珊、鍾富
雅、顏聖紘

封面設計/內頁排版：趙冠程、林秀枝、鄧文秀

研討會籌備幹部 (依姓氏筆畫排序)：

申屠萱、石憲宗、江明耀、李啟陽、李瑋崧、許北辰、陳淑佩、董耀仁、蔡志
濃、鄧文秀、謝廷芳

出 版 者：行政院農業委員會農業試驗所

地址：臺中市霧峰區中正路189號

傳真：(04) 2333-8162

電 話：(04) 2330-2301

網址：<https://www.tari.gov.tw>

出版年月：中華民國 111 年 08 月初版

定 價：非賣品

農試所出版品 2022 年 001 號

電子書系統號：285500

ISBN：9786267100929

GPN：4711100055

展售處：GPK政府出版品知識庫 <https://www.govbooks.com.tw/GPK>

電子書設計製作

設計製作：行政院農業委員會農業試驗所

地址：臺中市霧峰區中正路189號

電話：(04) 23302301

電子郵件：spchen@tari.gov.tw

電子書播放資訊

作業系統：Window, Mac

檔案格式：Adobe PDF

檔案內容：2D

播放軟體：PDF Reader

使用載具：PC



行政院農業委員會農業試驗所 主辦
中華植物保護學會 協辦

ISBN 978-6-2671-0092-9



9

786267

100929