

RAPD-PCR

在粉蝨類害蟲鑑定上之應用



行政院
農業委員會 動植物防疫檢疫局

諮詢與防治中心：

中心負責人：

高清文 動植物防疫檢疫局 植物防疫組

e-mail: cwkao@mail.baphiq.gov.tw

Fax: 02-23431473 Tel: 02-23431471

分區負責人：

北 區：葉俊巖 桃園區農業改良場 作物環境課

e-mail: eyenyeh@ms14.hinet.net

Fax: 03-4768477 Tel: 03-4768216

中 區：安寶貞 農業試驗所 植物病理系

e-mail: Pjann@wufeng.tari.gov.tw

Fax: 04-23338162 Tel: 04-23302301 轉 508

南 區：鄭安秀 台南區農業改良場 作物環境課

e-mail: ascheng@mail.tndais.gov.tw

Fax: 06-2608645 Tel: 06-2679526 轉 272

東北區：陳任芳 花蓮區農業改良場 作物環境課

e-mail: fang@mail.hdais.gov.tw

Fax: 03-8533740 Tel: 03-8521108 轉 350

東 區：李惠鈴 台東區農業改良場 作物環境課

e-mail: 730@mail.ttdais.gov.tw

Fax: 089-325015 Tel: 089-325110

撰文：劉中琪、王重雄

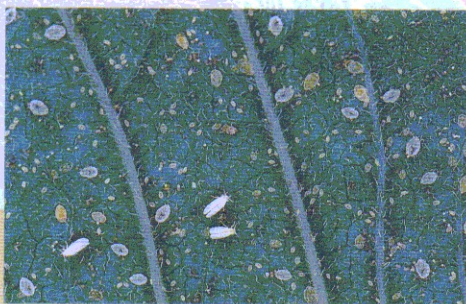
攝影：劉中琪、柯俊成

植物病蟲害防治摺頁 RAPD-PCR 在粉蝨類害蟲鑑定上之應

4

粉

蝨屬於同翅目粉蝨科之昆蟲，目前全世界已有151屬1,420種的記錄，其中具經濟重要性的粉蝨有47種，在台灣地區已發現18種。粉蝨的體形細小，多數不超過0.3公分，外形上雖然不顯眼，但對作物的為害卻非同小可。牠們會以刺吸式口器，插入葉片吸取植物組織液為營養，造成葉片之斑點、黃化甚至落葉；所排泄之蜜露，會誘發煤煙病，阻礙植株呼吸及光合作用的進行，使植物生長不良，影響作物的產量及品質，嚴重時導致整株植物死亡。



粉蝨的體形細小，多數不超過0.3公分



小小的粉蝨類常造成植物之大大的為害



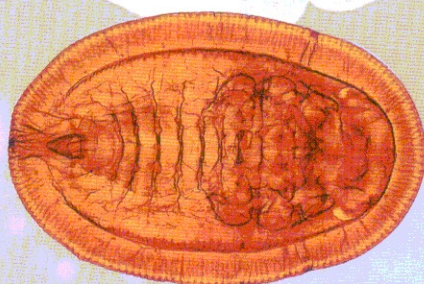
粉蝨類之為害常造成植物葉片之斑點、黃化，甚至於落葉



粉蝨類排泄之蜜露會誘發煤煙病，阻礙植株呼吸及光合作用的進行

害

蟲鑑定工作往往奠基於昆蟲形態特徵之上，而粉蝨類之體形細小小，鑑定不易，以往僅依據特定齡期之蟲體(蛹殼)特徵來鑑定，因此需要學有專精之昆蟲分類專家才能精確地鑑定粉蝨種類。台灣地區常見為害農作物的粉蝨類害蟲有4種，包括銀葉粉蝨、煙草粉蝨、溫室粉蝨及螺旋粉蝨，其中銀葉粉蝨、煙草粉蝨及溫室粉蝨在大小、外形上十分相近，尤其銀葉粉蝨及煙草粉蝨幾乎沒有穩定之形態特徵可區分。此外粉蝨類的蟲體有時也會因寄主植物之不同而有形態上的變化，故需要發展出有別於形態特徵且具可信賴和穩定性高之分子標示鑑定技術。



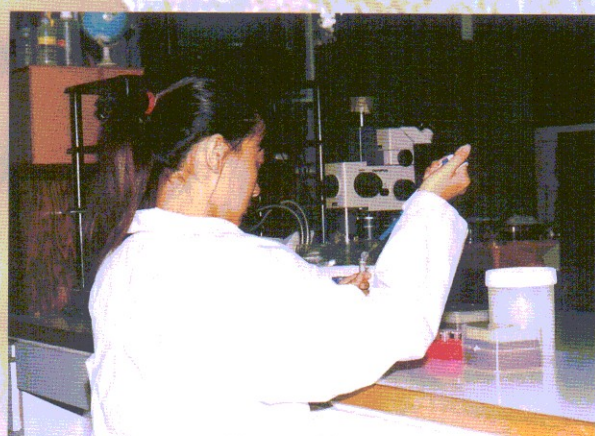
粉蝨類是以第四齡蛹殼作為分類依據



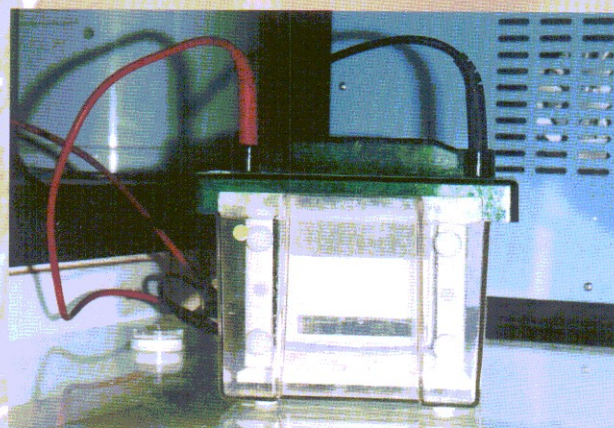
銀葉粉蝨之若蟲

發

展以分子生物技術之DNA為基礎的鑑定方法，不僅可為傳統昆蟲形態分類學注入新的分類佐證，並開拓出新穎的研究領域，此種DNA標示片段用以作鑑定者稱為分子標示。其優點包括：(1) DNA不因蟲之形態和齡期不同而有變化；(2) 高度變異性之DNA片段可作同種內及不同種間種類之鑑定；(3) 僅需少量之DNA，可適用於乾燥或是殘缺的蟲體；(4) 鑑定結果清楚明確且具有再現性；(5) 多種樣本可同時進行比對和分析，並在短時間內即可完成鑑定；(6) 分析步驟簡單且不需特別之儀器；(7) DNA樣本可長期儲存。常應用於昆蟲鑑定之分子標示方法包括RAPD-PCR、PCR-RFLP、rDNA及mtDNA等，其中又以RAPD-PCR之應用最具實用性。



只需簡單的步驟，便可進行 RAPD-PCR 操作



蛋白質電泳亦可應用於昆蟲種類之鑑定

分析流程：



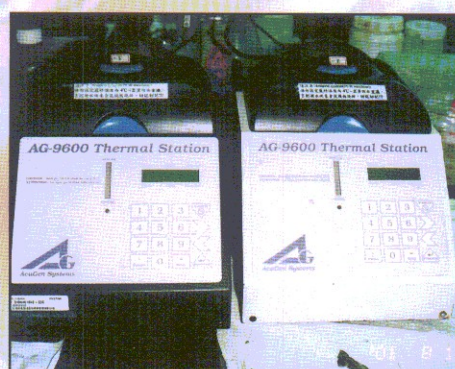
待鑑定的粉蟲置於95%的酒精中長期保存

粉蟲類 DNA 之抽取

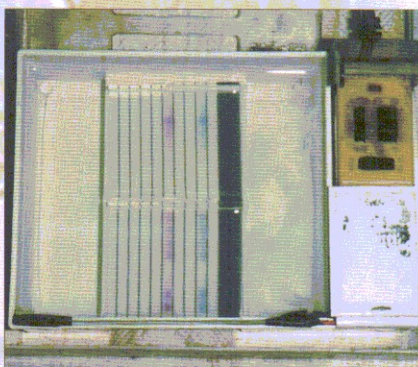
RAPD-PCR

電泳

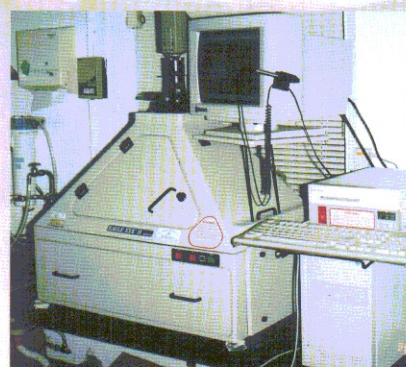
圖譜比對



RAPD-PCR 是最具實用性的快速鑑定方法



電泳分析 RAPD-PCR 之 DNA 產物

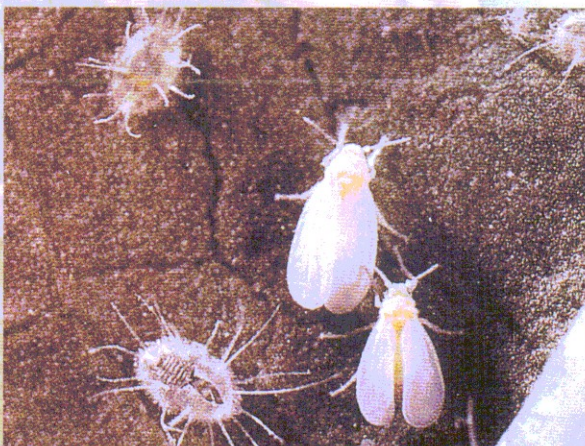


利用影像分析處理設備觀察並儲存電泳之結果

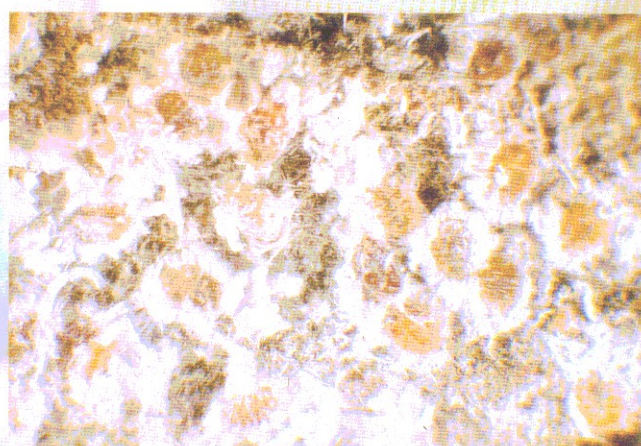
國外先進國家已將 RAPD-PCR 技術應用於害蟲種類鑑定，包括已篩選出可區分煙草粉蟲各品系及銀葉粉蟲之隨機引子，執行害蟲之檢防疫工作。國內透過操作生物技術於粉蟲類鑑定亦有初步的進展，目前已完成 RAPD-PCR 引子之篩選，並利用篩選出之引子所增幅出的 RAPD-PCR 圖譜以鑑定各個生活時期之銀葉粉蟲、煙草粉蟲、溫室粉蟲及螺旋粉蟲。RAPD-PCR 技術之操作簡便、結果明確、分析快速，在未來的害蟲鑑定上是不可或缺的利器！！



銀葉粉蟲在美國又有超級害蟲之稱



溫室粉蟲是近年來侵入台灣地區的粉蟲類害蟲



螺旋粉蟲亦是常見寄主範圍相當廣之粉蟲類害蟲