

Xylella fastidiosa 的媒介昆蟲生態學與傳病機制

段淑人^{1*} 張沛文¹ 石憲宗² 鄧文玲³ 蘇秋竹⁴ 馮鈞育⁴

¹ 國立中興大學昆蟲學系

² 農委會農業試驗所應用動物組

³ 國立中興大學植物病理學系

⁴ 農委會農業藥物毒物試驗所農藥應用組

*通訊作者 e-mail: sjtuan@dragon.nchu.edu.tw

摘要

果樹木質部難養菌病害中最受矚目的即是由 *Xylella fastidiosa* 引起的細菌性病害，此菌為革蘭氏陰性且端部長有纖毛。它侷限於植物木質部導管中繁殖，並造成水份阻塞而產生植物急速缺水、焦枯的病徵。全球重要的經濟果樹病害如葡萄皮爾氏病 (Pierce's disease) 及柑桔斑駁黃化病 (citrus variegated chlorosis) 即由此菌造成。褐透翅尖頭葉蟬 (*Homalodisca vitripennis*) 入侵美國加州後，即成為皮爾氏病的主要媒介昆蟲，因其具有長距離遷移的能力、雜食性及高發生率，可加速皮爾氏病的擴散，對美國釀酒葡萄產業造成巨大的威脅。近年來我國亦於中部橫山梨園區發現此菌造成梨葉緣焦枯病 (pear leaf scorch) 的案例，經由田間監測與分子檢測結果，推測白邊大葉蟬為候選媒介昆蟲。由於許多因子均可影響此病害的發生率與嚴重性，在做好防治策略規劃前，必需先對各種影響因子徹底了解，如病原菌的分類、特性、感性植物及中間寄主之物種範圍、媒介昆蟲種類及其生態學、傳病機制與適宜發病的環境條件等。故本篇擬針對葡萄皮爾氏病的蟲媒機制、傳病率與我國梨葉緣焦枯病候選蟲媒白邊大葉蟬之生物學及生態學的研究進度做一報告。

關鍵詞：木質部難養菌、傳病機制、傳播率、褐透翅尖頭葉蟬、葡萄皮爾氏病、梨葉緣焦枯病

前言

Xylella fastidiosa Wells 是一種木質部難養菌，為桿狀、革蘭氏陰性細菌，菌體端部具有長短不一之多型性纖毛 (pili of various types)，因侷限於木質部繁殖造成菌落聚集，常在感染後數月菌體嚴重阻塞導管、妨礙水份傳送，引起植株枝條或葉柄末端呈缺水現象，而產生葉片黃化、焦枯、似被火灼燒之病徵。為害之作物包括多種重要經濟果樹，如葡萄、杏仁、柑桔、咖啡、梨子及其他梨果類樹種，以及夾竹桃、苜蓿與其他園藝花卉種類。其中引起全球矚目的即為葡萄皮爾氏病 (Pierce's disease, PD)，在美國數個重要的釀酒產業地區均已遭受其威脅 (Hill & Purcell, 1995; Hopkins & Purcell, 2002; Redak *et al.*, 2004)；而另一個由 *X. fastidiosa* 造成具有經濟重要性的果樹病害則為柑桔斑駁黃化病 (citrus variegated

chlorosis, CVC), 自 1990 年代初期在巴西逐漸擴散至其他柑桔生產國, 隨後引發美國柑桔產業的嚴重損失。已有許多品系完成分子鑑定, 在美國即有數種不同菌系發生 (Costa *et al.*, 2006)。由 *X. fastidiosa* 引起的病害主要發生在北美洲的熱帶或有溫暖冬季的亞熱帶地區, 除此依研究報告尚有台灣的梨葉緣焦枯病(pear leaf scorch, PLS) (Leu & Su, 1993) 及南斯拉夫的葡萄皮爾氏病 (Berisha *et al.*, 1998)。

葡萄皮爾氏病自 1880 年代起即周期性地造成加州沿岸葡萄園區的經濟損失, 然在 1990 年代晚期, 因原產於墨西哥北部之褐透翅尖頭葉蟬 (*Homalodisca vitripennis*) (glassy-winged sharpshooter, GWSS) 入侵南加州, 更造成嚴重的疫病流行 (Blua *et al.*, 1999; Purcell & Saunders, 1999; Varela *et al.*, 2001)。隨後又擴遷至亞利桑納州、夏威夷及法屬玻里尼西亞等地區, 建立大量棲群而造成皮爾氏病的迅速蔓延, 導致釀酒葡萄產業的重大損失。2005-2006 年間德州政府亦針對該蟲的分佈與田間帶菌率進行全面的採集與檢測, 經黃色黏板上取得之數千隻褐透翅尖頭葉蟬樣品, 以 RT-PCR 分析後僅有 3 個檢體帶有, 此意謂褐透翅尖頭葉蟬持續地擴散葡萄皮爾氏病, 而德州地區之葡萄園也即將成為 *X. fastidiosa* 感染之新疫區, 造成該疫病之持續擴散中 (Hail *et al.*, 2010)。感病葡萄株可能在受病原菌侵入後數個月才逐漸呈現病徵, 包括葉緣黃化、赤褐色, 至全葉焦枯脫落只剩葉柄, 藤莖呈不規則木質化而留下小區域的綠色條斑, 即將成熟的果粒整串乾燥懸吊於樹上, 植株呈現矮化、短藤、小葉或新芽變形等 (Varela *et al.*, 2001)。由於許多因子均會影響 *Xylella* 病害發生的頻率及嚴重性, 故對於該菌系特性、感性寄主及替代寄主植物物種、媒介昆蟲之生物及生態特性、環境氣候對媒介昆蟲與病勢的發展, 以及蟲媒之傳病機制等均需詳加了解, 以利累積擬訂防治策略時之必備要素。在台灣近年來已於中部橫山梨果園陸續發現由 *X. fastidiosa* 感染之葉緣焦枯病疫區, 在數年的監測及分子檢測數據中呈現木質部取食者白邊大葉蟬 *Kolla paulula* (Walker) 可能為本病之媒介昆蟲。本篇即針對國外數種葉蟬媒介 *Xylella* 病害的傳播機制、傳播率進行探討, 並報告我國梨葉緣焦枯病候選蟲媒白邊大葉蟬之生物學及生態學。

媒介昆蟲寄主營養與其食性、生長發育之研究

植物木質部汁液為貧瘠的胺基酸流質, 含有多於 80% 的水與少數無機鹽類離子所組成。因此木質部取食者 (xylem feeder) 為了能夠維持生長與繁殖, 勢必演化出特殊的行為及生理適應; 包括大量的取食植物汁液、高效率地吸收胺基酸、及頻繁遊走於各寄主植物間 (Tipping *et al.*, 2004; Mizell *et al.*, 2008)。也由於一般木質部取食者僅能吸食植株木質部汁液的水份與無機鹽類離子, 通常其寄主範圍相對較為廣泛。褐透翅尖頭葉蟬即是一種相當雜食的昆蟲, 可取食超過 100 種隸屬 37 科的植物, 不同的寄主植物可影響褐透翅尖頭葉蟬卵的孵化率、若蟲發育時間、存活率、及雌蟲之產卵量; 混和多種植物共同飼育褐透翅尖頭葉蟬, 將可提高產卵量及有效建立室內族群 (Hoddle *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2010)。葉蟬在若蟲期與成蟲期具有不同的營養需求, 能提供若蟲完整發育的植物種類遠遠超過成蟲會取食利用的, 通常成蟲會選擇胺基酸較豐富的寄主植物取食, 對於其繁殖及生

命維持佔有相當大的重要性，然而實驗室內的生態研究，均限制了褐透翅尖頭葉蟬寄主植物選擇的多樣性 (Russell *et al.*, 2003; Brodbeck *et al.*, 2007; Mizell *et al.*, 2008)。除了寄主植物之營養成份對褐透翅尖頭葉蟬之生理表現有影響外，其生活中各時期之發育時間和壽命可受性別及生長季節影響，夏季雌、雄蟲平均壽命分別為 77.1 天及 21.5 天，冬季雌、雄蟲分別為 168.6 天及 140.7 天；而壽命與植物營養程度及一些環境因子決定了雌蟲一生的產卵量，個體間並有相當大的變異，其中又以冬季的平均產卵量 264.5 粒多於夏季產卵量 186.7 粒。在冬季雌蟲的卵黃形成作用受到延遲，產卵前期由夏季的 13.2 天增至 74.2 天；而產卵期、產卵後期及產卵量在兩個季節則沒有顯著差異。大量飼育時族群密度影響著若蟲發育時間、存活率及雌蟲產卵量；夏季若蟲發育時間隨著飼育密度增加而延長，平均為 37.4 天、冬季若蟲平均發育時間則為 187.8 天 (Lauzière & Sétamou, 2010)。

Xylella 病害的傳播是藉由取食木質部之半翅目昆蟲，在刺吸植株時將咽頭內附著繁殖之菌體注入寄主植物導管而產生感染源。雖然少數的沫蟬科 (Cercopidae) 昆蟲亦可傳播此類病害，但最主要的媒介昆蟲大多屬於葉蟬亞科 (Cicadellinae)，其均有自植株獲毒並傳毒的能力。早於 30 年前，已有 9 屬 28 種葉蟬經確認為美國地區葡萄皮爾氏病的媒介昆蟲 (Severin, 1950; Nielson, 1968; 1979)。整合褐透翅尖頭葉蟬、藍綠尖頭葉蟬 (*Graphocephala artropunctata* (Signoret))、綠尖頭葉蟬 (*Draeculacephala minerva* Ball)、紅首尖頭葉蟬 (*Xyphon fulgida* Nottingham) 及數種沫蟬的傳毒率、繁殖棲所、寄主植物、發生頻率、分散能力等，確認褐透翅尖頭葉蟬對病害擴散之威脅性最高 (Varela *et al.*, 2001)。而柑桔斑駁黃化病亦可由 10 屬 11 種葉蟬傳播 (Krugner *et al.*, 2000)。因此有數種木質部取食性葉蟬，因具高效率傳播 *Xylella* 病害之能力，而被視為重要的農業害蟲。

Xylella fastidiosa 之寄主植物範圍及媒介昆蟲傳播率之研究

蟲媒植物病害的傳播率高低，依媒介昆蟲種類及寄主植物品系之不同組合而有很大的變異，包括媒介昆蟲獲取及傳播病原菌的能力 (包含在蟲體內繁殖的效率)、植物本身對病菌的感受性、以及其與植物間的交互關係 (Purcell, 1980; 1989)。以綠葉蟬及藍綠葉蟬而言，後者在葡萄皮爾氏病的傳毒效率遠高於前者，但在苜蓿植株上的傳毒效率則相反。在杏樹及梨樹上 *Xylella* 病害的傳播效率遠遠低於葡萄，且甜橙植株內的 *X. fastidiosa* 菌體密度約為葡萄植株內的百分之一 (Severin, 1949; Turner & Pollard, 1955; Purcell, 1979, 1980; Almeida *et al.*, 2001)。而 *X. fastidiosa* 菌在罹病柑桔葉柄導管中成功建立菌落的機率僅 6.4-13.5% 亦遠低於葡萄中的 40% (Mollenhauer & Hopkins, 1976; Alves *et al.*, 2004)。經調查發現加州 Temecula 山谷之葡萄皮爾氏病發生的頻度及嚴重程度，與葡萄園和柑桔園鄰近程度有密切關係，即使褐透翅尖頭葉蟬往返於兩種果園間取食，但未見柑桔感染 *X. fastidiosa* 病害的病徵出現。再度印證葡萄與柑桔對 *X. fastidiosa* 菌種有不同的感受性及忍受程度，但柑桔仍可保有該菌使褐透翅尖頭葉蟬得以獲毒而增加葡萄罹病的機會 (Bi *et al.*, 2007)。新羽化之褐透翅尖頭葉蟬成蟲的獲毒與傳毒效

率高於田間採集之老齡成蟲，成蟲獲毒與接種時間於一小時內即可完成，接種處理時間愈長則傳毒成功率愈高，然獲毒處理時間一旦超過 6 小時後，其獲毒率不會隨之顯著增加 (Almeida & Purcell, 2003)。

媒介昆蟲對寄主植物之取食偏好性亦會影響自罹病株獲毒的效率，偏好性較低之植物無法使葉蟬久停、大量刺吸，故降低獲毒與傳毒的菌體濃度。接種相同濃度菌體時，各植物體內繁殖菌體之速度亦決定葉蟬獲毒之成功率，細菌量愈高則產生愈高的傳毒率，以葡萄柚而言，接種後 10 天植株內細菌量自 5×10^5 CFU/g 增至 25 天之 5×10^8 CFU/g，而傳毒率亦由 4.5% 提升至 55% (Hill & Purcell, 1997)。以相同的媒介昆蟲進行 *Xylella* 病害傳播，發現杏樹的 *X. fastidiosa* 菌量及傳播率均不如葡萄 (Almeida & Purcell, 2003)，故植物病害之傳播率受媒介昆蟲、植株品系及菌系三者變異度的影響甚鉅 (Redak *et al.*, 2004)。褐透翅尖頭葉蟬可取食上百種植物，分別提供其全年生長發育與繁殖之營養所需 (Mizell *et al.*, 2008)，因為具有強飛行能力、多元的寄主植物、高取食量及頗長的成蟲期，造成它有較大的機會獲取不同品系的 *X. fastidiosa* 菌體，而成為最優勢的媒介 *Xylella* 病的害蟲。將褐透翅尖頭葉蟬連續曝露於感染皮爾氏病的葡萄及葉緣焦枯病的夾竹桃之環境中，可利用 PCR 測得單獨獲得一種菌體且成功繁殖的分別有 29% (PD) 及 41% (OLS)，而同時測得兩種菌系的葉蟬僅有 7%，可傳其中一種菌系至健康株者約為 39%，且無任何蟲體可同時傳兩種病害，即使經取食非寄主植物長達一週，褐透翅尖頭葉蟬體內仍保有 *X. fastidiosa* 菌體 (Costa *et al.*, 2006)。不同植物木質部汁液可能對 *X. fastidiosa* 菌體的生長、聚集與附著型式均有影響，採自葡萄柚、柑桔、檸檬的木質部汁液造成菌體結集成一團白色的菌塊，而取自於葡萄藤的木質部汁液則使得 *X. fastidiosa* 菌體產生一層厚而明顯易見的生物膜 (biofilm)，且經接種數天後發現 *X. fastidiosa* 菌體在柑桔、檸檬植株內的密度低於葡萄，且柑桔木質部汁液亦呈現顯著抑制生物膜形成的情形，此將影響植株對病菌之感受性及媒介昆蟲傳毒成功率 (Bi *et al.*, 2007)。而媒介昆蟲對於健康株或罹病株亦有不同之取食偏好性，即在植株上之停留取食時間或移動頻度有所差異，因而影響病原菌擴散的速率 (Sisterson, 2008)。

葉蟬媒介 *Xylella fastidiosa* 之傳播機制與生物膜之形成

葡萄皮爾氏病的病原 *X. fastidiosa* 菌體經常可自田間採集之藍綠尖頭葉蟬的前腸分離出來。在光學或掃描式電子顯微鏡下觀察受感染之葉蟬，可見該菌附著於蟲體食料腔及食道上呈繁殖狀態。藍綠尖頭葉蟬在取食罹病葡萄時，於獲毒後 2 小時即可成功傳毒，如此短暫的潛伏期顯示，高效率的葉蟬一旦獲得病菌時，只需利用取食行為即能成為有效的傳毒者，不需要在蟲體內循環、或等待長時間的繁殖。若蟲經過蛻皮即消失傳毒能力，但只要再度取食罹病株即可獲毒，此菌不會經由卵傳播，且只要成蟲感染獲毒，即可持續傳播病菌，最長可達數個月，且在獲毒兩週後即可於食料腔及前食料腔發現如地毯般覆蓋的菌層 (Severin, 1949; Freitag, 1951; Purcell, 1979; Purcell *et al.*, 1979; Purcell & Finlay, 1979; Almeida & Purcell, 2003)。巴西柑桔園內三種媒介昆蟲 *Acrogonia citrina*,

Oncometopia facialis 及 *Dilobopterus costalimai* 於獲毒 48 小時並培養二週後，發現 *X. fastidiosa* 菌體以側邊附著於食料腔、以菌體端部附著於前食料腔 (Alves *et al.*, 2008)。當葉蟬刺吸罹病植株時，存在木質部汁液中之 *X. fastidiosa* 菌體可以 5 to 50 cm/s 的流速經過蟲體前腸，此流動可造成部份附著的菌體於生物膜形成前脫離前腸內壁表皮，在初期是以側向附著，但菌落大量形成時則以端部附著蟲體表皮 (Almeida & Purcell, 2006)。

X. fastidiosa 在植株木質部內與植物之多醣類發生作用，同時菌體蛋白質參與細胞附著、酵素分解果膠聚葡萄糖及纖維素等作用，菌體可分解利用植株之養分作為碳源 (Roper *et al.*, 2007)。類似的狀況亦發生在媒介昆蟲的前腸壁，*X. fastidiosa* 可消化蟲體表皮結構之多醣類成為營養生長之原料，例如果膠，此等碳源亦會影響傳毒機制與效率 (Killiny & Almeida, 2009a)。昆蟲體結構性多醣類以纖維素及幾丁質為最主要的成份，也是許多微生物生長時重要的有機碳、氮源，可供其在環境中存活，有助於其在寄主與媒介昆蟲體中生存、附著與傳播的元素，但某些醣胺類如 *N-acetylglucosamine* 亦會抑制細菌對蟲媒的黏附 (Gooday, 1990; Keyhani & Roseman, 1999; Killiny & Almeida, 2009b)。幾丁質亦可誘發細菌表現型的改變，顯著增強黏附性，故 *X. fastidiosa* 菌不僅可利用蟲媒前腸壁為碳源，更可啟動其基因調節，有效表現生物膜以利菌體在蟲媒體內之附著、生長、繁殖，而增進傳毒效率 (Killiny *et al.*, 2010)。*X. fastidiosa* 在媒介昆蟲與寄主植物體內表現高度進化的適存策略，生物膜的形成包括黏附素 (Adhesins)、血球凝集素 (Hemagglutinins) 及細胞外多醣類 (Extracellular polysaccharides, EPS) 的基因表現等都由特定訊號傳導的分子主導，此機制對蟲媒與植株受感染及傳毒的成功率有決定性之關連 (Chatterjee *et al.*, 2008)。生物膜的功用尚有抵抗外來抗菌物質，它的形成極為複雜，包括忌水與親水性、結構與粗糙度，雖然忌水性及粗糙的表面有助於菌體的附著力，但生物膜表面的功能基才是最重要的特性決定因子 (Lorite *et al.*, 2011)。

台灣梨葉緣焦枯病之媒介昆蟲生態學研究

梨葉緣焦枯病 (pear leaf scorch) 為台灣特有之細菌性病害，普遍發生於中部地區橫山梨栽植產區。其病原經鑑定為 *Xylella fastidiosa* strain PLSB (pear leaf scorch bacterium, PLSB) (Leu & Su, 1993)，此細菌之生理生化特性及在植物上造成的病理特性非常相似於國外報導的 *X. fastidiosa* Wells，可在植物的導管內生長繁殖，造成導管堵塞、阻斷水分輸送，導致患部因缺水而枯萎，嚴重時可造成病株死亡。但在後續試驗中應用血清反應 (serological tests) 與 DNA 指紋圖譜分析不同寄主來源的 *X. fastidiosa* 菌株後，發現台灣梨樹上分離所得的 PLSB 與其他寄主來源的 *X. fastidiosa* 菌株間有明顯差異 (Leu *et al.*, 1998; Su *et al.*, 2008a)。利用 16S rDNA 序列及 ITS 序列確定台灣梨葉緣焦枯病菌的分類地位，發現其基因序列與國外已知的 *X. fastidiosa* 3 個亞種 (subsp. *piercei*, subsp. *Multiplex* 以及 subsp. *pauca*) 之相似值低於 88.4% (Schaad *et al.*, 2004)。故推論 PLSB 與其他寄主植物來源之 *X. fastidiosa* 菌株親緣關係較遠，是否為新種或新亞種則須再確

認。自 2010 年 7 月起每二週，於后里外埔梨葉緣焦枯病疫區進行可疑病媒蟲物種調查，以黃色黏蟲板監測梨園與周邊雜草區之蟲相，發現其中木質部取食者 (xylem feeders) 以白邊大葉蟬 *Kolla paulula* (Walker) 物種豐度最具優勢。目前於田間收集之上千隻木質部取食者昆蟲 (xylem feeding insects)，其中 2 隻白邊大葉蟬 (*Kolla paulula*) 體內可偵測出帶有病原菌序列的陽性反應 (正反應)，再選擇其中一隻分析其 16S rRNA 基因序列，與 Su *et al.* (2008a, b) 登錄於 NCBI 之 PLSB 有高達 99.9% 以上的相似值，認定其可能為傳播作物木質部導管細菌性病害之媒介昆蟲，目前已將本種葉蟬列為具傳播 PLSB 的潛在媒介昆蟲 (potential vector)。

白邊大葉蟬的寄主範圍相當廣，小花蔓澤蘭、大花咸豐草、紫花霍香薊、鴨跖草 (Shih *et al.*, 2009) 與螞蟥菊等常見雜草，皆可提供其生長所需之養分。本研究已完成在實驗室建立大花咸豐草及螞蟥菊單隻飼育白邊大葉蟬方法，同時觀察其生活史、各發育期之存活率，並已進行室內定溫及室外變溫條件下之生命表實驗，了解白邊大葉蟬之基礎生態學資料。分析其完成世代所需時間、存活率、性比率及繁殖力等，並依據其內在增殖率探討其可能造成為害之嚴重性。由試驗結果得知其基礎生態學部份，在室內 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 恆溫箱中，由卵發育至成蟲所需之平均時間為 43.29 天，成蟲前期死亡率為 27.2%。在春季室外變溫條件下，若蟲一至五齡平均發育時間分別為 8.15、6.12、7.16、8.09 以及 10.02 天；而卵的發育期平均 13.54 天，總計成蟲前期平均為 53.04 天，較室內 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 恆溫下之發育速率為慢。成蟲前期死亡率為 21.1%，其中又以卵期死亡率最高達 18.4%，待卵順利孵化後若蟲易於存活，各齡若蟲之存活率分別為 100、100、99.1、100 及 98.2%。成蟲羽化後，雌雄性比為 1: 1.14。雌蟲產卵前期平均 6.85 天，平均一生產卵量達 91.26 ± 38.91 粒，個體間差異極大。各族群介量統計如下，內在增殖率 (r) 為 0.0473，淨增殖率 (R_0) 為 33.62，終極增殖率 (λ) 為 1.0485，平均世代時間 (T) 為 74.27 天。經由實驗結果顯示，白邊大葉蟬族群在春夏之際完成一個世代所需時間約需 83.11 天；又因其雌成蟲產卵期平均長達一個半月，因此可預知田間白邊大葉蟬族群有世代交疊的現象，此有助於其在田間傳播病害。

結語

媒介昆蟲、寄主植物與病原菌三者間之交互作用可影響病害傳播率及疫病發生嚴重性，而環境中諸多生物因子與非生物因子亦會對媒介昆蟲和植物生長勢產生發育、行為及生態表現上的改變。欲掌控蟲媒病害之發生，則必需先對各種影響因子徹底了解，如病原菌的生物特性、媒介昆蟲物種特性、傳病機制及田間棲群動態、植物病原菌中間寄主之物種範圍、與適宜發病的環境條件等，才能做好防治策略之整體規劃。Bextine *et al.* (2004) 欲利用藥劑對昆蟲取食行為產生負面影響以防治病害的蔓延，對褐透翅尖頭葉蟬施用取食阻斷劑如派滅淨 (Pymetrozine)，結果雖可阻礙其取食持續性、降低其蜜露排遺量，卻反而造成感病植株的增加，故使用不適宜之藥劑不但不能防治媒介昆蟲，可能還會導致傳播率的提升。故在策訂防治措施時應選用適當藥劑，如可利用系統性殺蟲劑與去除

罹病株或感性品種，可為有效防治蟲媒病害之模式 (Krewer *et al.*, 2002; Mitchell *et al.*, 2009)。

由農委會動植物防疫檢疫局支持中興大學昆蟲學系與植病學系、彰化師範大生物學系、農業試驗所應用動物組及農業藥物毒物試驗所農藥應用組所組成之研究團隊，進行「梨樹葉緣焦枯病之病原鑑定及其媒介昆蟲之生態調查與傳病效率研究」已邁入第二年，目前完成蟲媒物種鑑定及生態調查、病菌分子生物鑑定、田間可疑中間寄主植物之帶菌率檢測、候選蟲媒生物學及生態學研究。另同時持續進行其寄主範圍、傳毒機制及傳毒率等試驗，以針頭穿刺植物莖基部製造傷口並滴上細菌懸浮液的方式在梨樹及其他果樹與雜草植株上進行人工接種菌液。由實驗得知梨樹葉緣焦枯病菌亦可在日日春維管束中增殖及移行，未來將持續進行葡萄、煙草、大花咸豐草及蟛蜞菊等植物的接種工作，將確認本菌的寄主專一性，以做為防治該媒介昆蟲及降低病害傳播之參考。

引用文獻

- Almeida, R. P. and A. H. Purcell. 2003. Transmission of *Xylella fastidiosa* to grapevines by *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). *J. Econ. Entomol.* 96: 264-271.
- Almeida, R. P. P. and A. H. Purcell. 2006. Patterns of *Xylella fastidiosa* colonization on the precibarium of leafhopper vectors relative to transmission to plants. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99: 884-890.
- Almeida, R. P., E. F. Pereira, A. H. Purcell, and J. R. S. Lopes. 2001. Multiplication and movement of a citrus strain of *Xylella fastidiosa* within sweet orange. *Plant Dis.* 85: 382-386.
- Alves, E., R. C. Marucci, J. R. S. Lopes, and B. Leite. 2004. Leaf symptoms on plum, coffee, and citrus and the relationship with the extent of xylem vessels colonized by *Xylella fastidiosa*. *J. Phytopathol.* 152:291-297.
- Alves, E., B. Leite, R. C. Marucci, S. F. Pascholati, J. R. Lopes, and P. C. Andersen. 2008. Retention sites for *Xylella fastidiosa* in four sharpshooter vectors (Hemiptera: Cicadellidae) analyzed by scanning electron microscopy. *Curr. Microbiol.* 56: 531-538.
- Berisha, B., Y. D. Chen, G. Y. Zhang, B. Y. Xu, and T. A. Chen. 1998. Isolation of Pierce's disease bacteria from grapevines in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 104: 427-33.
- Bextine, B. R., D. Harshman, M. C. Johnson, and T. A. Miller. 2004. Impact of pymetrozine on glassy-winged sharpshooter feeding behavior and rate of *Xylella fastidiosa* transmission. *J. Insect Sci.* 4: 34-39.
- Bi, J. L., C. K. Dumenyo, R. Hernandez-Martinez, D. A. Cooksey, and N. C. Toscano. 2007. Effect of host plant Xylem fluid on growth, aggregation, and attachment of *Xylella fastidiosa*. *J. Chem. Ecol.* 33: 493-500.
- Blua, M. J., P. A. Phillips, and R. A. Redak. 1999. A new sharpshooter threatens both crops and ornamentals. *Calif. Agric.* 53: 22-25.
- Brodbeck, B. V., P. C. Andersen, R. F. Mizell, S. Oden, and R. F. Mizell. 2007. Preference-performance linkage of the xylem feeding leafhopper, *Homalodisca*

- vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae). Environ. Entomol. 36: 1512-1522.
- Chatterjee, S., R. P. P. Almeida, and S. Lindow. 2008. Living in two worlds: The plant and insect lifestyles of *Xylella fastidiosa*. Annu. Rev. Phytopathol. 46: 243-271.
- Chen, W., R. A. Leopold, and M.A. Boetel. 2010. Host plant effects on development and reproduction of the glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis* (Homoptera: Cicadellidae). Environ. Entomol. 39: 1545-1553.
- Costa, H. S., A. Guzman, R. Hernandez-Martinez, C. Gispert, and D. A. Cooksey. 2006. Detection and differentiation of *Xylella fastidiosa* strains acquired and retained by glassy-winged sharpshooters (Hemiptera: Cicadellidae) using a mixture of strain-specific primer sets. J. Econ. Entomol. 99: 1058-1064.
- Freitag, J. H. 1951. Host range of Pierce's disease virus of grapes as determined by insect transmission. Phytopathology 41: 920-934.
- Gooday, G. W. 1990. The ecology of chitin degradation. Adv. Microb. Ecol. 11: 387-430.
- Hail, D., F. Mitchell, I. Lauziere, P. Marshall, J. Brady, and B. Bextine. 2010. Detection and analysis of the bacterium, *Xylella fastidiosa*, in glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis*, populations in Texas. J Insect Sci. 10 (168): 1-11.
- Hill, B. L. and A. H. Purcell. 1995. Multiplication and movement of *Xylella fastidiosa* within grapevine and four other plants. Phytopathology 85: 1368-1372.
- Hill, B. L. and A. H. Purcell. 1997. Populations of *Xylella fastidiosa* in plants required for transmission by an efficient vector. Phytopathology 87: 1197-1201.
- Hoddle, M. S., S. V. Triapitsyn, and D. J. W. Morgan. 2003. Distribution and plant association records for *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae) in Florida. Fla. Entomol. 86: 89-91.
- Hopkins, D. L. and A. H. Purcell. 2002. *Xylella fastidiosa*: cause of Pierce's disease of grapevine and other emergent diseases. Plant Dis. 86: 1056-1066.
- Keyhani, N. O. and S. Roseman. 1999. Physiological aspects of chitin catabolism in marine bacteria. Biochim. Biophys. Acta 1473: 1008-1022.
- Killiny, N. and R. P. P. Almeida. 2009a. Host structural carbohydrate induces vector transmission of a bacterial plant pathogen. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106: 22416-22420.
- Killiny, N. and R. P. P. Almeida. 2009b. *Xylella fastidiosa* afimbrial adhesins mediate cell transmission to plants by leafhopper vectors. Appl. Environ. Microbiol. 75: 521-528.
- Killiny, N., S. S. Prado, and R. P. P. Almeida. 2010. Chitin utilization by the insect-transmitted bacterium *Xylella fastidiosa*. Appl. Environ. Microbiol. 76: 6134-6140.
- Krewer, G, J. D. Dutcher, and C. J. Chang. 2002. Imidacloprid insecticide slows development of Pierce's disease in bunch grapes. J. Entomol. Sci. 37: 101-112.
- Krugner, R., M. T. V. Lopes, J. S. de Santos, M. J. G. Beretta, and J. R. S. Lopes. 2000. Transmission efficiency of *Xylella fastidiosa* to citrus by sharpshooters and identification of two new vector species. p. 423. in the Proceedings of the 14th Conference of the International Organization of Citrus Virologists., Campinas, SP,

Brazil.

- Lauzière, I. and M. Sétamou. 2010. Life history studies of *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae), a vector of Pierce's disease of grapevine. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 103: 57-65.
- Leu, H. H., Leu, L. S., and Lin, C. P. 1998. Development and application of monoclonal antibodies against the causal bacterium of pear leaf scorch, *Xylella fastidiosa*. *J. Phytopathol.* 146: 31-37.
- Leu, L. S. and C. C. Su. 1993. Isolation, cultivation, and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*, the causal bacterium of pear leaf scald in Taiwan. *Plant Dis.* 77: 642-46.
- Lorite, G. S., C. M. Rodrigues, A. A. de Souza, C. Kranz, B. Mizaikoff, and M. A. Cotta. 2011. The role of conditioning film formation and surface chemical changes on *Xylella fastidiosa* adhesion and biofilm evolution. *J. Colloid and Interface Science* 359: 289-295.
- Mitchell, F. L., J. Brady, B. Bextine, and I. Lauziere. 2009. Seasonal increase of *Xylella fastidiosa* in hemiptera collected from central Texas vineyards. *J. Econ. Entomol.* 102: 1743-1749.
- Mizell, R. F., C. Tipping, P. C. Andersen, B. V. Brodbeck, W. B. Hunter, and T. Northfield. 2008. Behavioral model for *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae): optimization of host plant utilization and management implications. *Environ Entomol.* 37: 1049-1062.
- Mizell, R. F., P. C. Andersen, C. Tipping, and B. Brodbeck. 2003. *Xylella fastidiosa* diseases and their leafhopper vectors. Department of Entomology and Nematology, ENY-683: 1-7.
- Mollenhauer, H. H. and D. L. Hopkins. 1976. Xylem morphology of Pierce's disease infected grapevines with different levels of tolerance. *Physiol. Plant Pathol.* 9: 95-100.
- Nielson, M. W. 1968. The leafhopper vectors of phytopathogenic viruses (Homoptera: Cicadellidae). Taxonomy, biology, and virus transmission. U.S. Dep. Agric. Tech. Bull. 1382: 1-386.
- Nielson, M. W. 1979. Taxonomic relationships of leafhopper vectors of plant pathogens. pp. 3-27.
- Purcell, A. H. 1979. Control of the bluegreen sharpshooter *Graphocephala atropunctata* and effects on the spread of Pierce's disease of grapevines. *J. Econ. Entomol.* 72: 887-892.
- Purcell, A. H. 1979. Leafhopper vectors of xylem-borne plant pathogens. pp. 603-625. *in: Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents* (K. Maramorosch & K. Harris ed.) New York.
- Purcell, A. H. 1980. Almond leaf scorch: leafhopper and spittlebug vectors. *J. Econ. Entomol.* 73: 834-838.
- Purcell, A. H. 1989. Homopteran transmission of xylem-inhabiting bacteria. pp. 243-266. *in: Advances in Disease Vector Research.* (Harris, K. F. ed.) Springer-Verlag. New York.
- Purcell, A. H. and A. H. Finlay. 1979. Evidence for noncirculative transmission of

- Pierce's disease bacterium by sharpshooter leafhoppers. *Phytopathology* 69: 393-395.
- Purcell, A. H. and S. R. Saunders. 1999. Glassywinged sharpshooters expected to increase plant disease. *Calif. Agric.* 53: 26-27.
- Purcell, A. H., A. H. Finlay, and D. L. McClean. 1979. Pierce's disease bacterium: mechanism of transmission by leafhopper vectors. *Science* 206:839-841.
- Redak, R. A., A. H. Purcell, J. R. S. Lopes, M. J. Blua, R. F. Mizell III, and P. C. Andersen. 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annu. Rev. Entomol.* 49: 243-270.
- Roper, M. C., L. C. Greve, J. G. Warren, J. M. Labavitch, and B. C. Kirkpatrick. 2007. *Xylella fastidiosa* requires polygalacturonase for colonization and pathogenicity in *Vitis vinifera* grapevines. *Mol. Plant Microbe Interact.* 20: 411-419.
- Sandanayaka, W. R. and E. A. Backus. 2008. Quantitative comparison of stylet penetration behaviors of glassy-winged sharpshooter on selected hosts. *J. Econ. Entomol.* 101: 1183-1197.
- Schaad, N. W., E. Pastnikova, G. Lacey, M. Fatmi, and C. J. Chang. 2004. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. *piercei*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 27: 290-300.
- Severin H. H. P. 1950. Spittle-insect vectors of Pierce's disease virus. II. Life history and virus transmission. *Hilgardia* 19: 357-382.
- Severin, H. H. P. 1949. Transmission of the virus of Pierce's disease by leafhoppers. *Hilgardia* 19: 190-202.
- Shih, H. T., C. C. Su, C. Y. Feng, C. C. Fanjiang, W. F. Hung, and L. Y. Hung. 2009. Studies on the morphology, ecology, and host range for *Kolla paulula* (Walker, 1858) (Hemiptera: Membracoidea: Cicadellidae: Cicadellinae). *Formosan Entomol.* 29: 353. (in Chinese)
- Sisterson, M. S. 2008. Effects of insect-vector preference for healthy or infected plants on pathogen spread: insights from a model. *J. Econ. Entomol.* 101: 1-8.
- Su, C. C., W. J. Yang, C. Y. Feng, S. T. Hsu, and K. C. Tzeng. 2008a. The application of DNA fingerprintings amplified by arbitrary primers in differentiating pear leaf scorch bacterium from other *Xylella fastidiosa* strains. *Plant Pathol. Bull.* 17: 261-269.
- Su, C. C., W. J. Yang, S. T. Hsu, and K. C. Tzeng. 2008b. Specific detection of *Xylella fastidiosa* strains causing pear leaf scorch by polymerase chain reaction. *Plant Pathol. Bull.* 17: 183-194.
- Tipping, C., R. F. Mizell, and P. C. Andersen. 2004. Dispersal adaptations of immature stages of three species of leafhopper (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cicadellidae). *Fla. Entomol.* 87: 372-379.
- Turner, W.F. and H. N. Pollard. 1955. Additional leafhopper vectors of phony peach. *J. Econ. Entomol.* 48: 771-772.
- Varela, L. G., R. J. Smith, and P. A. Phillips. 2001. Pierce's disease. University of California Agricult.

Ecology and transmission mechanism of leafhoppers vectoring *Xylella fastidiosa*

Shu-Jen Tuan^{1*}, Pei-Wen Chang¹, Hsien-Tzung Shih², Wen-Ling Deng³,
Chiou-Chu Su⁴, and Chun-Yu Feng⁴

¹Department of Entomology, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan

²Applied Zoology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, COA, Taichung, Taiwan

³Department of Plant Pathology, National Chung-Hsing University, Changhua, Taiwan

⁴Pesticides Application Division, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, COA, Taichung, Taiwan

Abstract

Xylella fastidiosa Wells (Xanthomonadales: Xanthomonadaceae) is a gram-negative and pili-forming bacterial pathogen. The fastidious bacterium colonizes only in xylem tissues and hence causes diseases by blocking water passages in many economically important hosts. The most famous diseases are Pierce's disease (PD) of grapevine and citrus variegated chlorosis (CVC). The glassy-winged sharpshooter leafhopper, *Homalodisca vitripennis* Germar (Hemiptera: Cicadellidae), is a xylophagous insect that is an endemic pest of several economically important plants. *H. vitripennis* has been a major vector of PD in southeastern United States for decades, and has become an important vector of PD in California after its introduction in 1990. Because of its ability for long distance movements, polyphagous behavior, and high frequency of occurrence, it had put much of USA grape production at risk. Recently, this bacterium was reported to cause pear leaf scorch (PLS) disease in central Taiwan. Based on the results of field inspections and molecular detections, *Kolla paulula* has been considered as the candidate vector for PLS disease. In order to control diseases caused by *X. fastidiosa*, the following factors should be well understood: the characteristics of the pathogen, the susceptible and alternative host plants, the biology and ecology of candidate vectors, the favorable environmental conditions for the pathogens and the vectors. In this article, the ecology of the vectors and their transmission efficacies and mechanism will be discussed.

Key words: *Xylella fastidiosa*, Mechanism of transmission, Transmission efficacy, *Homalodisca vitripennis*, Pierce's disease, Pear leaf scorch

