台灣和金門地區螺旋線蟲和矛線蟲 (Nematoda: Hoplolaiminae) 之種類鑑定

陳殿義1 陳瑞祥2 顏志恒3 蔡東纂4 倪蕙芳56

1 台中縣 行政院農業委員會農業試驗所

2 嘉義市國立嘉義大學生物科技研究所

3 台中市 國立中興大學農業推廣中心

4 台中市 國立中興大學植物病理學系

⁵ 嘉義市 行政院農業委員會農業試驗所嘉義分所

⁶ 聯絡作者:電子郵件 hfni@dns.caes.gov.tw,傳真:+886-5-2773630

接受日期:中華民國 95 年2 月8 日

摘要

陳殿義、陳瑞祥、顏志恒、蔡束纂、倪蕙芳. 2006. 台灣和金門地區螺旋線蟲和矛線蟲 (Nematoda: Hoplolaiminae) 之種類鑑定. 植病會刊15: 25-38.

自 2005 年起,陸續在台灣和金門地區首次新記錄 6 群的 Scutellonema brachyurum (Steiner, 1938) Andrassy, 1958、3 群的 S. truncatum Sher, 1963,以及 7 群的 Hoplolaimus columbus Sher, 1963。各群線蟲鑑定的依據為外觀形態、形態測量值 (morphometrics) 及核糖體 DNA (ribosomal DNA, rDNA) 片段之 5.8S 基因和非轉錄區間序列 (Internal transcribed spacer, ITS) 的相似度分析 比對。本研究除提供更多完整的形態測量值和 SEM 外觀形態方面資料,更首次在 GenBank 基因庫中登錄這三種線蟲 rDNA 片段上 5.8S 基因和 ITS 之代表性序列,提供世界各地研究者鑑定 時一項重要輔助資料。

關鍵詞:螺旋線蟲、矛線蟲、鑑定、Scutellonema brachyurum、Scutellonema truncatum、 Hoplolaimus columbus、核糖體 DNA

緒 言

自 2005 年起,陸續於台灣本島和外島金門地區進 行植物病原線蟲採集鑑定工作,其間共計採集到 25 群 (populations) 螺旋線蟲 (spiral nematode) 和 7 群矛線蟲 (lance nematode),其中有 6 群的螺旋線蟲鑑定為 *Scutellonema brachyurum* (Steiner, 1938) Andrassy (1958),另有 3 群螺旋線蟲為 *S. truncatum* Sher (1963),至於 7 群矛線蟲則皆為 *Hoplolaimus columbus* Sher (1963)。在本文中所記錄之前述三種線蟲種類,其 分類地位皆屬於 Hoplolaiminae Filipjev (1934)下,為 Hoplolaimidae (Filipjev, 1934) Weiser (1953) 科的三個亞 科 (subfamily) 之一⁽¹⁷⁾,而其上更高分類位階依序分別 為總科 (superfamily) Hoplolaimoidea (Filipjev, 1934) Paramonov, 1967, 亞目 (suborder) Tylenchina (Filipjev, 1934) Geraert, 1966,目 (order) Tylenchida (Filipjev, 1934) Thorne, 1949,亞綱 (subclass) Secernentea (von Linstow, 1905) Dougherty, 1958 和綱 (class) Nematoda Rudolphi, 1808。Hoplolaiminae 亞科的代表屬 (Type genus) 為 *Hoplolaimus* Daday, 1905,其主要特徵爲側尾 腺孔 (phasmid) 是屬於大型,呈現小盃盤 (scutellum) 狀,其位置位於肛門附近二側或陰門位置的前後。

螺旋線蟲 S. brachyurum 廣泛分佈於熱帶地區,寄 主 植 物 範 圍 大, 主 要 寄 生 方 式 爲 外 寄 生 性 (ectoparasitic)²¹⁾。Graham 氏⁽¹²⁾發現每加命 (gallon) 體積 的土壤中含有 4000-5000 隻的 S. brachyurum 時,分別 會減少烟草地上部植株和根系的重量達 57 % 和 43 %。而矛線蟲 H. columbus 又俗稱為 Columbia lance nematode,為美國喬治亞州 (Georgia) 和南卡羅萊那州 (South Carolina) 當地主要作物大豆和棉花的重要病原 線蟲^(1,8,18),其主要病徵為造成大豆植株矮化、葉片黃化 及豆莢數目減少,而棉花上則為植株生長緩慢,葉片 紫色化或棉球莢 (bolls) 變小且提早脫落。

在台灣地區曾有二次較大規模的作物線蟲相調查 研究,且多侷限在1972年以前,包括胡和朱二氏(13.14) 曾針對製糖蔗園進行全省普查,而黃氏等(15)則對全台 各類型作物進行全面採集調查。另洪氏等(16)針對本島 香蕉園、杜氏等(26)於南部棉區及陳氏等(27)在金門地區進 行植物寄生性線蟲相之研究。在前述的調查報告中雖 已有 Hoplolaimus 和 Scutellonema 等二屬 (genus)線蟲 之記錄,但都未進行種 (species)分類層級的鑑定工 作。本文即針對此二屬線蟲,依其外觀形態學 (Morphology)、形態測量値 (morphometrics)及rDNA 片段之 5.8S及ITS 等序列的比對資料進行種類鑑定, 以及初步了解此三種線蟲在台灣和金門地區之寄主植 物種類及其分佈情形。

材料和方法

在本研究中之螺旋線蟲和矛線蟲的線蟲樣本,其 來源主要從台灣和金門地區的多年生和管理良好之單 一品種果樹或花卉園區之根圈土樣分離得來,至於線 蟲的分離方法、樣本處理和保存、線蟲形態的測量方 法及 rDNA 片段序列間之相同度等所用之分析軟體和 參數設定值等皆和陳氏等^(a)之報告中相同。另外線蟲的 SEM 形態觀察與游和蔡二氏^(a)的方法相同。至於有關 線蟲總量 DNA 之抽取、rDNA 片段序列之選殖和解序 等的方法和前述報告之內容大致相同,但部分方法、 材料和步驟略有調整,茲僅將不同之處略述於後。另 此一研究之供試線蟲群的來源地區和寄主植物種類如 (表一)中所列。

線蟲總量 DNA 之抽取

在每一群中先以吸管吸取大約10-50 隻線蟲至清 水中漂洗,再以吸管吸取至微量離心管中,經離心 後,將上層液取出,加入 DNA 萃取緩衝液 [20 mM Tris-HCl, pH 8.5, 50 mM EDTA, pH 8.0, 1 % SDS] 進 行研磨後,再加入 10 µ1 的 20 mg/ml proteinase K (Protech) 後置於 65℃ 水浴一小時,再移至 95℃ 水浴 10 分鐘,於 20°C 下以 12000 g 離心 10 分鐘。將離心 後之上層液取出,加入 100 µ1 Phenol: chloroform: isoamyl alcohol (25:24:1), 混合均匀後於 20℃ 下以 10000 g 離心 10 分鐘,將上層液取出加入 10 μ1 的 3M Sodium Acetate (pH 5.2) 及 100 µl 的 iso-propanol, 混 合均匀後置於冰上 20 分鐘,繼而於 4℃ 下以 10000 g 離心 10 分鐘,取出後倒掉上層液,再加入 200 μ1 的 70%冰冷酒精,混合均匀後於4℃下以10000g離心 5 分鐘,將上層液倒掉後將離心管置於無菌操作台內使 多餘的酒精風乾,最後加入無菌水約 30 µ1 於微量離 心管中, 並在 65℃ 水浴中靜置 5 分鐘, 將純化之 DNA 保存在-20℃ 下備用。

表一、供試螺旋線蟲和矛線蟲群之來源

Table1. The origins of *Scutellonema* and *Hoplolaimus* populations investigated in this study.

Species	Code	Origin	Host
S. brachyurum	Sbra1	Danshui, Taipei County	Golden spider lily (Lycoris aurea Herb.)(金花石蒜)
	Sbra2	Danshui, Taipei County	Zigzag-asparagus (Asparagus densiflorus Jessop cv.
			'Myriocladus') (松葉武竹)
	Sbra3	Danshui, Taipei County	Daylily (Hemerocallis hybrida Hort.)(金針花)
	Sbra4	Houli, Taichung County	Golden spider lily (L. aurea Herb.)
	Sbra5	Fuli, Hualien County	Daylily (H. hybrida Hort.)
	Sbra6	Taimali, Taitung County	Daylily (H. hybrida Hort.)
S. truncatum	Stru1	Pinglin, Taipei County	Bamboo (Bambusa spp.)(綠竹)
	Stru2	Taichung City	Bamboo (Bambusa spp.)(麻竹)
	Stru3	Danshui, Taipei County	Bamboo (Bambusa spp.)(綠竹)
H. columbus	Hco1	Dounan, Yunlin County	Banana (Musa spp. cv. 'Pei-chiao')(北蕉)
	Hco2	Cishan, Kaohsiung County	Banana (Musa spp. cv. 'Pei-chiao')
	Hco3	Dashu, Kaohsiung County	Banana (Musa spp. cv. 'Pei-chiao')
	Hco4	Kinhu, Kinmen County	Banana (Musa spp. cv. 'Pei-chiao')
	Hco5	Sincheng, Hualien County	Banana (Musa spp. cv. 'Ba-chiao')(芭蕉)
	Нсоб	Sincheng, Hualien County	Banana (Musa spp. cv. 'Pei-chiao')
	Hco7	Wanluan, Pingtung County	Banana (Musa spp. cv. 'Pei-chiao')

	Locality and host (code)						
Character	Danshui	Danshui	Danshui	Houli	Fuli	Taimali	North Carolina
	Golden spider	Zigzag-asparagus	Daylily(Sbra3)	Golden spider	Daylily(Sbra5)	Daylily(Sbra6)	Red spider lily
	lily (Sbra1)	(Sbra2)		lily (Sbra4)			(topotypes) ²
n	16	15	16	21	12	12	20
L (mm)	$\begin{array}{c} 0.76 \ \pm \ 0.03^{3} \\ (0.69 - 0.80) \end{array}$	$\begin{array}{c} 0.75 \pm 0.05 \\ (0.66 \text{-} 0.85) \end{array}$	$\begin{array}{c} 0.71 \pm 0.05 \\ (0.64 \text{-} 0.81) \end{array}$	$\begin{array}{c} 0.72 \pm 0.04^{\scriptscriptstyle 3} \\ (0.65 \text{-} 0.80) \end{array}$	$\begin{array}{c} 0.69 \ \pm \ 0.03 \\ (0.65 - 0.73) \end{array}$	$\begin{array}{c} 0.70 \pm 0.05 \\ (0.64 \text{-} 0.79) \end{array}$	0.72-0.88
a	28.7 ± 2.6 (25.2-33.5)	29.0 ± 2.8 (24.2-34.4)	28.6 ± 2.7 (24.4-33.3)	28.1 ± 2.2 (25.0-32.6)	30.0 ± 2.3 (25.9-34.8)	27.7 ± 2.1 (24.1-30.9)	24-34
b	9.4 ± 0.5 (8.4-10.1)	9.4 ± 0.5 (8.8-10.6)	9.6 ± 0.8 (8.4-11.0)	9.0 ± 1.0 (n=19) (7.8-12.0)	8.7 ± 0.4 (8.3-9.4)	8.9 ± 0.6 (8.2-9.9)	-
b'	5.4 ± 0.3 (n=15) (4.9-5.7)	5.5 ± 0.4 (n=14) (5.0-6.2)	5.5 ± 0.4 (n=15) (4.9-6.4)	5.1 ± 0.4 (4.6-5.9)	5.1 ± 0.3 (4.7-5.6)	5.2 ± 0.4 (n=11) (4.6-5.8)	5.0-6.3
c	85.4 ± 13.6 (56.2-110.0)	71.6 ± 6.3 (60.8-85.6)	77.6 ± 8.7 (61.7-91.4)	68.2 ± 6.3 (55.4-80.0)	72.5 ± 11.4 (57.5-92.9)	69.7 ± 11.1 (53.3-88.8)	56-92
c'	0.54 ± 0.1 (0.4-0.7)	0.63 ± 0.1 (0.5-0.8)	0.58 ± 0.1 (0.4-0.7)	0.55 ± 0.1 (0.5-0.7)	0.57 ± 0.1 (0.5-0.7)	0.57 ± 0.1 (0.5-0.7)	-
V	60.0 ± 1.3 (58.3-62.6)	60.4 ± 1.1 (58.0-62.4)	60.6 ± 1.5 (58.2-63.8)	60.0 ± 1.9 (56.8-63.8)	59.6 ± 0.9 (57.6-61.6)	61.0 ± 1.5 (58.8-64.6)	58-62
Stylet (µm)	$\begin{array}{c} 27.8 \pm 0.8 \\ (26.4 \text{-} 29.7) \end{array}$	$28.1 \pm 0.7 (26.7-29.3)$	27.4 ± 1.0 (24.7-28.7)	27.8 ± 1.2 (25.0-30.0)	27.7 ± 0.9 (26.3-29.7)	$28.3 \pm 0.9 (27.3-29.7)$	27-31
ODG (µm)	8.7 ± 0.7 (n=13) (7.3-9.7)	7.6 ± 1.0 (5.3-9.3)	7.5 \pm 0.8 (n=15) (6.0-8.7)	$\begin{array}{c} 6.8 \ \pm \ 0.7 (n{=}20) \\ (5.3{-}8.0) \end{array}$	$7.5 \pm 0.5 (n=11)$ (6.7-8.3)	$\begin{array}{c} 7.1 \ \pm 0.7 \\ (6.0-8.0) \end{array}$	-
0	31.0 ± 2.4 (26.7-34.6)	26.9 ± 3.3 (19.6-32.9)	27.3 ± 3.1 (21.7-31.9)	24.6 ± 2.6 (19.4-28.2)	26.9 ± 1.8 (23.9-29.3)	25.2 ± 2.7 (21.0-28.5)	17-28
EP(µm)	$125 \pm 5 (n=15)$ (113-132)	130 ± 10 (116-143)	120 ± 8 (108-133)	123 ± 7 (112-138)	118 ± 4 (108-123)	126 ± 4 (117-130)	-
Р	16.5 ± 0.9 (14.7-18.1)	17.4 ± 0.8 (15.9-18.8)	16.8 ± 1.2 (14.3-18.7)	17.2 ± 0.8 (16.0-18.9)	17.0 ± 0.8 (15.7-18.4)	18.0 ± 1.0 (16.2-20.0)	-
Phasmid (µm)	4.3 ± 0.4 (3.5-4.8)	3.9 ± 0.3 (3.3-4.7)	$4.1 \pm 0.4 (n=15)$ (3.5-4.8)	$\begin{array}{l} 4.1 \pm 0.4 (n=20) \\ (3.5-4.7) \end{array}$	4.2 ± 0.3 (3.9-4.7)	$\begin{array}{c} 4.4 \ \pm 0.3 \\ (4.0 \text{-} 4.7) \end{array}$	-
Tail (µm)	9 ± 2 (7-13)	11 ± 1 (9-12)	9 ± 1 (7-12)	11 ± 1 (9-13)	10 ± 1 (7-12)	10 ± 1 (8-12)	-
Anal body width (μ m)	17 ± 1 (15-19)	17 ± 1 (15-18)	16 ± 2 (13-18)	19 ± 1 (17-22)	17 ± 1 (15-20)	18 ± 1 (17-19)	-

表二、台灣地區 Scutellonema brachyurum 之形態測量值及其與在美國地區已記錄地模標本之比較 Table 2. Morphometrics of the Scutellonema brachyurum populations isolated from Taiwan and its comparison with topotypes recorded in USA

¹ n=no. of nematodes; L=body length; a=body length divided by its maximum width; b= body length divided by the length from anterior end of body to the metacorpus; b'=body length divided by length of esophagus up to end of esophageal glands; c=body length divided by length of tail; c'=tail length divided by anal diameter of body; V=ratio between distance from vulva to anterior end of body and total body length in %; ODG= the distance from base of stylet to orifice of dorsal gland; o=ratio between the length of ODG and total length of stylet in %; EP= the distance from excretory pore to the anterior end of body; p=ratio between the length of EP and body length in %; Phasmid: internal diameter

² Sher, S. A. 1963⁽²¹⁾

³ Measurements in the form: mean \pm standard deviation (range), "-"=no data

rDNA 片段序列之增幅

進行 PCR 增幅反應的混合液總共 25 µ1,其中包含可增幅植物病原線蟲 rDNA 片段 (包含完整 5.8S 基因,部分18S 和28S 基因及ITS-1 和ITS-2 內轉錄區間

等之序列) 序列之通用性引子對,各 0.5 μ1;2 個單位 的 *Taq* polymerase (Protech); 10 X *Taq* DNA polymerase buffer;A、T、C、G 四種 deoxyribonucleotide (dATP, dTTP dCTP, dGTP),各 0.1mM。PCR 在自動溫度循環



圖一、Scutellonema brachyurum 雌蟲之光學影像形態:A, 蟲體靜止時形態 (eg, 食道腺體;V, 陰門);B, 蟲體頭端 部分 (o, 背食道腺體之開口位置);C (Sbra4) 和D (Sbra2), 蟲體尾端部分 (a, 肛門位置)。比例尺長度:A=50 微米; B-D=10 微米。

Fig. 1. Photomicrographs of *Scutellonema brachyurum*. Female, A: Whole body (eg, esophageal gland; v, vulva); B: Anterior region (o, orifice of dorsal gland); C (Sbra4) & D (Sbra2): Posterior region (a, anus). Scale bars in A=50 μ m; in B-D=10 μ m.

控制反應器 (Thermocycler, BioRad, USA) 中依下述步驟 進行增幅反應: 第一循環先以94°C 持續4 分鐘,再以 94°C 30 秒、52°C 30 秒及72°C 1 分鐘進行 30 個循環, 最後以72°C 7 分鐘進行 PCR 產物的最後延長,最終反 應結束時保持在4°C下。反應完成後的產物以 0.5 X TBE buffer (40 mM Tris, 20 mM Boric acid, and 1 mM EDTA, pH 8.0) 在 1.5 % agarose gel 上進行電泳分析並 檢視結果。

rDNA 增幅片段之選殖和解序

將上述 PCR 產物以 Wizard®SV Gel and PCR Clean-

Up System (Promega, USA) 先進行純化, 再將已純化的 PCR 產物與 pGEM-T easy 載體 (Promega, USA) 進行連 結反應後再將連結完成之質體送入勝任細胞中 (*Escherichia coli*, ECOS101, Yeastern Biotech. Taiwan)。 篩選後之菌株委由源資公司 (Taiwan) 進行 T7/Sp6 引子 兩向之核酸定序之工作。

線蟲 rDNA 片段之代表性序列

本研究中之二種螺旋線蟲和一種矛線蟲之各別代 表性序列(一致性序列, consensus sequence)的產生方式 分別如下:在6群 Scutellonema brachyurum中,由



圖二、*Scutellonema brachyurum* 雌蟲之 SEM 影像形態 (Sbra5): A, 唇區 (ts, 水平條溝); B, 蟲體中央區 (i, 側帶溝; lf, 側帶); C & D: 尾部區 (a, 肛門; ae, 側帶橫條構; p, 側尾腺孔)。比例尺長度: A-D=10 微米。 Fig. 2. SEM photomicrographs of *Scutellonema brachyurum* (Sbra5). Female, A: Lip region (ts, transverse striations); B: Middle region (i, incisures; lf, lateral field); C & D: Tail region (a, anus; ae, aerolations; p, phasmid). Scale bars in A-D=10 μ m.

Sbra1、Sbra4、Sbra5 及 Sbra6 等 4 群分別挑取 4、3、 2 及 3 個選殖體進行定序,共獲得 12 條 rDNA 片段之 原始序列資料,其中由前 3 群等共 9 個原始序列所產 生之一致性序列,再經人為檢視修正後為上述該種線 蟲之代表性序列 (1343 bp; GenBank, Accession No. DQ316097); 而 3 群的 *S. truncatum* 中,分別由 Stru1、Stru2 及 Stru3 挑取 3、3 及 1 個選殖體進行定 序,共獲得7 條rDNA片段原始序列資料,再由此7個原 始序列以前述同樣方法產生其代表性序列 (1457 bp; GenBank, Accession No. DQ316098); 在 7 群 *Hoplolaimus columbus* 中,由 Hco1、Hco2、Hco4 及 Hco5 等 4 群分別挑取 1、2、1 及 3 個選殖體進行定 序, 共獲得 7 條 rDNA 片段原始序列資料, 以前述同 樣方式產生其代表性序列 (1269 bp; GenBank, Accession No. DQ309584)。

結 果

Scutellonem brachyurum 之鑑定

在台灣的中部后里、北部淡水楓樹湖、以及東部 花蓮富里的六十石山及台東太麻里的金針山等 4 個地 區,於金花石蒜、松葉武竹及金針花等共三種作物的

	Locality (code)					
Character ¹	Pinglin (Stru1)	Taichung (Stru2)	Danshui (Stru3)	South Africa Unknown ² (Paratypes)		
n	17	16	12	20		
L (mm)	$\begin{array}{c} 0.67 \pm 0.04 \\ (0.61 \text{-} 0.78) \end{array}$	$\begin{array}{c} 0.67 \pm 0.03 \\ (0.59 \text{-} 0.70) \end{array}$	0.63 ± 0.03 (0.60-0.70)	0.61-0.75		
a	$26.0 \pm 2.2 \\ (22.0-31.0)$	$\begin{array}{c} 25.1 \pm 1.9 \\ (22.3 - 28.8) \end{array}$	26.7 ± 1.2 (24.4-29.1)	22-28		
b	$11.0 \pm 0.6 (n=16)$ (10.2-12.4)	10.3 ± 0.6 (8.9-11.1)	$\begin{array}{c} 10.1 \pm 0.5 \\ (9.2 10.9) \end{array}$	-		
b'	$6.0 \pm 0.5 (n=13)$ (5.4-7.0)	5.7 ± 0.5 (4.7-6.7)	5.9 ± 0.6 (5.6-6.9)	4.7-5.9		
c	$56.3 \pm 6.8 \text{ (n=13)}$ (45.7-69.0)	$\begin{array}{c} 48.9 \pm 7.2 \\ (40.0\text{-}65.0) \end{array}$	44.2 ± 5.5 (36.7-53.9)	50-80		
c'	$\begin{array}{c} 0.63 \ \pm \ 0.1 \\ (0.6-0.7) \end{array}$	$\begin{array}{c} 0.71 \pm 0.1 \\ (0.6\text{-}0.9) \end{array}$	0.75 ± 0.1 (0.6-0.9)	-		
V	$56.6 \pm 0.9 \\ (54.4-57.8)$	56.3 ± 2.1 (53.7-61.4)	56.6 ± 0.8 (55.3-58.0)	55-60		
Stylet (µm)	26.8 ± 0.6 (26.0-28.3)	27.1 ± 0.8 (25.3-28.3)	26.8 ± 0.8 (25.7-28.0)	26-29		
ODG (µm)	7.0 ± 0.9 (n=15) (6.0-8.7)	7.3 ± 0.7 (6.0-8.7)	6.8 ± 0.6 (5.9-7.7)	-		
0	26.1 ± 3.1 (22.9-31.8)	27.0 ± 3.0 (21.8-32.2)	25.4 ± 1.8 (22.4-28.2)	16-27		
EP (µm)	93 \pm 6 (n=16) (82-104)	94 ± 10 (78-110)	95 ± 7 (79-104)	-		
Р	13.7 ± 1.1 (11.4-15.2)	14.1 ± 1.3 (12.0-16.0)	15.1 ± 1.4 (13.0-17.3)	-		
Phasmid (µm)	3.9 ± 0.3 (n=10) (3.5-4.5)	$3.6 \pm 0.3 (n=15)$ (3.1-4.1)	3.6 ± 0.3 (3.2-4.0)	-		
Tail (µm)	12 ± 2 (10-15)	14 ± 2 (10-17)	15 ± 2 (12-18)	-		
Anal body width (μm)	19 ± 1 (17-22)	19 ± 1 (18-22)	19 ± 1 (18-21)	-		

表三、台灣地區 Scutellonema truncatum 之形態測量值及其與在南非地區已記錄副模標本之比較 Table 3. Morphometrics of the Scutellonema truncatum populations isolated from Taiwan and its comparison with paratypes recorded in South Africa

¹ See table 2.

² Sher, S. A. 1963⁽²¹⁾

根圈土中分離鑑定 6 群 Scutellonema brachyurum (表一)。由各項形態測量値可知,除 Sbra1 群的 c、ODG 及 o 等三項的平均値明顯較其餘 5 群者大外,其他各項的測量平均値和其範圍在各群間都非常一致(表二)。在 rDNA 片段序列的比對上,12 個選殖體之原始序列(1310 bp-1346 bp)和一致性序列(1343 bp)的相同度値範圍為 92.5-99.6%,而其平均値為 97.9%。另前述Sbra1 的4 個rDNA 片段原始序列和一致性序列的相

同度值為 99.1 % 以上。

S. brachyurum 以福馬林溶液固定後,蟲體為向腹 面彎曲,大多呈現'C'字形,而食道腺體與腸呈現背部 重疊(圖一, A)。唇區呈半圓球形(semispherical),其基 部略突出與蟲體有明顯區隔,而唇區高度約5.3 µm。 另唇區上有三條橫條溝(transverse striations),呈現出4 個體環(annules)(圖一, B;圖二, A)。口針結球(stylet knob)大多呈現圓形(rounded),其橫寬約為5.2 µm(圖



圖三、Scutellonema truncatum 雌蟲之光學影像形態: A, 蟲體靜止時形態 (eg, 食道腺體; V, 陰門); B, 蟲體頭端部 分 (mb, 中部食道球; o, 背食道腺體之開口位置); C (Stru2) 和 D (Stru3), 蟲體尾端部分 (a, 肛門位置)。比例尺長度: A=50 微米; B-D=10 微米。

Fig. 3. Photomicrographs of *Scutellonema truncatum*. Female, A: Whole body (eg, esophageal gland; v, vulva); B: Anterior region (mb, median bulb; o, orifice of dorsal gland); C (Stru2) & D (Stru3): Posterior region (a, anus). Scale bars in A=50 μ m; in B-D=10 μ m.

一, B),而中部食道球的橫寬約為 10.5 μm,另口針錐 (subulate stylet shaft)約佔總口針長度的 49% (m=49)。 半月體 (hemizonid)位於排泄口 (excretory pore)處的前 方,而排泄口與食道腺體互為一邊。側帶 (lateral field) 具有4 條側帶溝 (incisures),其寬度約 4.6 mm,而側帶 橫條溝 (aerolations)只出現在蟲體前端和側尾腺孔 (phasmid)位置的附近 (圖二, B, C, D)。尾部為半圓形, 其尾端體皮有部分增厚的情形,而肛門 (anus)位置略 在側尾腺口的後方,距尾端約有 10 個體環 (圖一, C&D;圖二, D)。上述6 群皆未發現雄蟲。

Scutellonem truncatum 之鑑定

從台灣中部台中市大坑和北部的坪林和淡水等三個地區的竹類根圈土中,共分離到3群 Scutellonema truncatum(表一)。其中Stru1群的c和c'項的平均值和 其他二群有明顯差異外,其餘各項形態測量的平均值 和其範圍在各群間都非常一致(表三)。於rDNA 片段 序列的比對上,7 個選殖體之原始序列 (1454 bp-1458 bp) 和一致性序列 (1457 bp) 間的相同度值為 98.9-99.5%。

S. truncatum 靜止時,其蟲體亦呈現向腹面彎曲而 大多為 'C' 字形,其食道腺體和腸為背部重疊(圖三, A)。唇區為頂端鈍狀的圓錐形(blunt cone),其表面上 有不規則縱橫條溝(圖三, B;圖四, A)。口針結球和中部 食道球(median esophageal bulb)皆略呈圓球形(圖三, B),其橫寬分別約為 4.9 和 11.4 μm 另口針錐約佔總口 針長度的 43 %(m=43)。半月體位於排泄口前方約 2-4 個體環處,而排泄口與食道腺體大約處於相同位置, 但二者互為一邊。側帶上具有 4 條側帶溝,其寬度約 5.1 μm,而側帶橫條溝只出現在蟲體前端和側尾腺孔 位置的附近(圖四, A, B, C, D)。尾部在尾端為不規則半 圓形,且尾端體皮無增厚的情形,另肛門位置略在側 尾腺口的前方,距尾端約有 10 個體環(圖三, C&D;圖 四, C&D)。上述3 群皆未發現雄蟲。



圖四、*Scutellonema truncatum* 雌蟲之SEM影像形態 (Stru3): A, 蟲體頭部前端 (ae, 側帶橫條溝); B, 側帶 (i, 側帶 溝; v, 陰門); C & D: 尾部區 (a, 肛門; ae, 側帶橫條構; p, 側尾腺孔)。比例尺長度: A-D=10 微米。 Fig. 4. SEM photomicrographs of *Scutellonema truncatum* (stru3). Female, A: Anterior region (ae, aerolations); B: Lateral field (i, incisures; v, vulva); C & D: Tail region (a, anus; ae, aerolations; p, phasmid). Scale bars in A-D=10 µm.

Hoplolaimus columbus 之鑑定

從台灣中部的雲林斗南、南部的高雄旗山和大樹 及屛東萬巒、東部的花蓮新城,以及外島金門尚義等 6 個地區的香蕉園中,共分離鑑定出 7 群 *Hoplolaimus columbus*(表一)。除 Hco4 群的 b'、ODG 及 o 等三項形 態測量值的平均值較其他 6 群為小外,其餘各項的平 均值及其範圍在各群間皆非常一致(表四)。在 rDNA 片段序列的比對上,7 個選殖體之原始序列(1264 bp-1275 bp)和一致性序列(1269 bp)的相同度為 98.2-99.2 %。另前述 Hco4 群的原始序列和一致性序列的相同度 為 98.9 %。

H. columbus 體長屬於中型,長度約介於 1.36-1.51 um (表四),靜止固定後大多呈現直線或微向腹面之彎 曲狀,而食道腺體和腸部為背部重疊狀(圖五, A)。唇 區突出且與蟲體間有明顯區隔,其高度約 7.9 μm,而 其上面有明顯的水平條溝 (transverse striations) 和垂直 條溝 (longitudinal striations) (圖五, C; 圖六, A)。口針外 觀粗大,口針結球前緣呈鋸齒狀且微向前突出,其橫 寬約 8.1 μm,而口針錐約佔總口針長度的一半 (m=50.2)。半月體位置約位於排泄孔下方 2-4 個體環 處。中部食道球呈圓形,其橫寬約 21.1 μm。側帶上只 有一條側帶溝且不明顯 (圖六、C&D)。側尾腺孔大 型,位於陰門前後的左右兩側,二者內側直徑大約相 等 (圖五, B; 圖六, B&C)。尾部呈半圓球形,尾端體皮 略呈加厚 (圖五, D)。上述7 群中皆未發現雄蟲。

討 論

在台灣地區所分離鑑定的 6 群Scutellonema brachyurum 雌蟲,其形態測量值和在美國北卡羅萊那 州 (North Carolina) 地區所分離之地模標本 (topotypes) 所記錄的數值比對 (表二),除了 o 值的範圍差距較大 外 (19.4-34.6 和 17-28),其餘主要測量值的範圍如體

	Locality (code)					
Character ¹	Dounan	Cishan	Dashu	Kinmen		
	(Hco1)	(Hco2)	(Hco3)	(Hco4)		
n	15	12	8	8		
L (mm)	1.36 ± 0.08	1.42 ± 0.09	1.39 ± 0.06	1.41 ± 0.14		
	(1.15-1.50)	(1.26-1.54)	(1.27-1.48)	(1.28-1.64)		
a	30.4 ± 2.9	34.0 ± 2.9	31.2 ± 3.5	31.5 ± 3.2		
	(27.7-36.6)	(28.2-38.1)	(27.6-36.8)	(27.1-36.0)		
b	13.6 ± 1.1 (n=14)	14.1 ± 0.8	13.8 ± 0.9	13.5 ± 1.3		
	(12.1-16.1)	(12.9-15.3)	(12.4-15.0)	(11.8-15.5)		
b'	$7.1 \pm 0.8(n=13)$	7.6 ± 0.5 (n=9)	7.2 \pm 0.6 (n=5)	6.3 (n=4)		
	(5.9-8.6)	(7.1-8.6)	(6.4-8.0)	(6.0-6.6)		
с	$58.7 \pm 5.1(n=13)$	54.6 ± 8.5	59.7 ± 10.6	$58.4 \pm 1.9(n=7)$		
	(47.5-67.0)	(42.0-73.0)	(47.0-77.8)	(55.0-61.4)		
c'	0.73 ± 0.1	0.85 ± 0.1	0.77 ± 0.1	0.77 ± 0.1		
	(0.6-0.8)	(0.6-1.1)	(0.6-0.9)	(0.7-0.9)		
V	55.7 ± 1.7	55.6 ± 1.9	56.0 ± 2.2	55.4 ± 1.8		
	(53.4-58.4)	(53.5-58.9)	(53.9-59.2)	(52.1-57.9)		
Stylet (µm)	42.3 ± 1.0	42.2 ± 1.0	42.9 ± 1.2	43.3 ± 1.6		
•	(40.7-43.3)	(40.8-44.0)	(40.7-44.0)	(42.0-46.7)		
ODG (µm)	6.1 ± 1.2	6.8 ± 0.4	7.6 ± 0.7	$5.0 \pm 1.1(n=7)$		
	(4.3-9.3)	(6.1-7.7)	(6.7-9.0)	(4.1-7.0)		
0	14.4 ± 2.8	16.1 ± 1.1	17.7 ± 2.1	11.5 ± 2.1		
	(10.5-21.6)	(14.3-18.9)	(15.7-22.1)	(9.8-15.0)		
EP (μ m)	$125 \pm 8(n=13)$	$144 \pm 11(n=11)$	$136 \pm 11(n=6)$	$124 \pm 19(n=6)$		
	(106-139)	(129-166)	(128-158)	(112-163)		
Р	9.3 ± 0.8	10.2 ± 0.9	9.8 ± 0.7	9.0 ± 0.6		
	(7.5-10.7)	(9.3-12.1)	(9.0-10.8)	(8.4-10.2)		
Phasmid	4.9 ± 0.4 (n=12)	4.5 ± 0.3 (n=6)	4.9 ± 0.3	5.0 ± 0.3 (n=7)		
(µm)	(4.5-6.0)	(4.0-4.8)	(4.3-5.2)	(4.7-5.5)		
Anterior phasmid	-	33.9 (n=3)	$38.1 \pm 1.7 (n=7)$	35.7 (n=3)		
		(29.1-37.3)	(36.3-40.6)	(32.7-40.4)		
Posterior phasmid	82.3,82.5	$80.8 \pm 2.6(n=7)$	80.8 ± 1.9	81.4 ± 1.5		
-		(75.5-83.5)	(78.3-83.0)	(79.6-84.2)		
Tail (µm)	23 ± 2	27 ± 3	24 ± 4	24 ± 3		
	(18-28)	(20-32)	(18-28)	(21-28)		
Anal body	32 ± 3	31 ± 2	31 ± 2	31 ± 1		
width (µm)	(27-37)	(28-33)	(28-33)	(30-34)		

表四、台灣和金門地區 Hoplolaimus columbus 之形態測量值及其與在美國地區已記錄副模標本之比較 Table 4. Morphometrics of the Hoplolaimus columbus populations isolated from Taiwan and Kinmen and its comparison with paratypes recorded in USA

長(L)、陰門位置(V)及口針長度(stylet)等皆相當吻 合。另與12隻的合模式標本(syntypes)進行比對,其 有記錄的各測量值範圍亦相當接近^(21,23)。此外,*S. brachyurum*的雄蟲相當少見,僅 Taylor 氏⁽²⁵⁾曾在美國 明尼蘇達州(Minnesota)地區發現,其雄雌的出現比率 約為1/200,而在本研究中所分離的各群線蟲中,皆未 發現雄蟲。本研究中的3群*S. truncatum* 雌蟲,其形態

測量値的範圍和在南非地區所分離的副模標本 (paratypes)比對,除c項値的範圍間有較明顯差別外 (36.7-69.0和50-80),其餘主要測量値的範圍,如體 長、陰門位置及口針長度等都相當接近(表三)。至今 文獻中無 S. truncatum 雄蟲的報導,而本研究中的3群 線蟲中亦未發現雄蟲。至於7群 Hoplolaimus columbus 雌蟲的形態測量值,其範圍和在美國北卡羅萊那州地

with paratypes recorded in USA (cont.)						
	Locality (code)					
Character ¹	Sincheng	Sincheng	Wanluan	South Carolina, USA Soybean (paratypes) ²		
	(Hco5)	(Hco6)	(Hco7)			
n	8	8	12	20		
L (um)	1.44 ± 0.12	1.46 ± 0.11	1.51 ± 0.09	1.26-1.80		
	(1.26-1.59)	(1.30-1.67)	(1.34-1.73)			
a	32.8 ± 3.2	34.0 ± 1.5	33.5 ± 2.9	30-38		
	(28.5-38.8)	(31.7-35.8)	(27.9-38.0)			
b	14.8 ± 1.2	$14.3 \pm 0.9(n=7)$	14.5 ± 0.8	-		
	(12.9-16.5)	(13.3-15.4)	(13.1-15.7)			
b'	$7.7 \pm 0.6(n=7)$	7.3 ± 0.4 (n=5)	7.9 ± 0.5	6.3-9.7		
	(7.2-8.8)	(6.7-7.7)	(6.7-8.6)			
c	59.9 ± 6.0	$58.5 \pm 7.2(n=6)$	59.7 ± 8.0			
	(53.0-69.6)	(53.0-69.6)	(43.4-71.5)			
c'	0.80 ± 0.1	$0.83 \pm 0.1(n=6)$	0.80 ± 0.1	-		
	(0.7-0.9)	(0.7-0.9)	(0.7-1.1)			
V	56.4 ± 1.3	55.6 ± 1.7	55.4 ± 1.5	51-60		
	(55.0-58.7)	(52.9-57.7)	(52.6-58.6)			
Stylet (<i>u</i> m)	429 ± 14	422 + 09	424 + 14	40-48		
Stylet (pain)	(41.3-45.3)	(40.7-43.3)	(40.7-44.7)	10 10		
ODG(um)	63 ± 11	$64 \pm 0.8(n=7)$	69 ± 07	-		
	(4.7-7.7)	(5.0-7.3)	(5.7-8.1)			
0	14.8 ± 2.7	15.1 ± 2.0	16.3 ± 1.7	9-13		
-	(10.9-17.8)	(11.5-17.5)	(13.2-19.0)	,		
$EP(\mu m)$	127 + 8(n=7)	134 + 8(n=7)	143 ± 12	-		
	(117-140)	(123-144)	(123-165)			
Р	8.9 ± 0.8	9.4 ± 0.4	9.5 ± 0.7	-		
-	(7.5-9.9)	(8.9-10.0)	(8.3-10.3)			
Phasmid	$5.1 \pm 0.7(n=7)$	4.8 ± 0.5	$5.2 \pm 0.3(n=11)$	-		
(µm)	(4.0-5.9)	(4.0-5.5)	(4.7-5.7)			
Anterior phasmid	40.3 (n=4)	$37.2 \pm 2.5(n=6)$	$33.1 \pm 3.9(n=5)$	34-47		
1	(37.5-48.1)	(32.8-39.9)	(30.2-39.7)			
Posterior phasmid	$77.7 \pm 3.8(n=6)$	$82.5 \pm 2.2(n=7)$	$80.4 \pm 2.8(n=8)$	80-90		
1	(70.2-80.8)	(79.1-84.9)	(75.3-85.3)			
Tail (µm)	24 ± 3	26 ± 2	26 ± 4	-		
·· /	(20-30)	(23-28)	(20-35)			
Anal body	30 ± 2	31 ± 1	32 ± 1	-		
width (µm)	(27-33)	(30-33)	(31-35)			

表四、台灣地區 Hoplolaimus columbus 之形態測量值及其與在美國地區已記錄副模標本之比較(續) Table 4. Morphometrics of the Hoplolaimus columbus populations isolated from Taiwan and Kinmen and its comparison with paratypes recorded in USA (cont.)

¹ Anterior phasmid=ratio between distance from anterior phasmid to the anterior end of body to body length in %; Posterior phasmid= ratio between distance from posterior phasmid to the anterior end of body to body length in %, the others see table 2.

² Sher, S. A. 1963. ⁽²²⁾

區所分離的副模標本比對,除c項值的範圍有明顯差別(42.0-77.8和39-57),其他主要測量值的範圍,如體長、陰門位置、口針長度、前側尾腺孔 (anterior phasmid) 及後側尾腺孔 (posterior phasmid) 都相當吻合(表四)。*H. columbus*的雄蟲相當少見,但Fassuliotis 氏⁽⁹⁾

曾在一群中發現其雄蟲和雌蟲的比率為 1/60,另指出 雄蟲的整體外觀形態和雌蟲的唯一差別只在於生殖器 官不同。

截至目前,植物病原線蟲種類之鑑定雖仍大多以 雌蟲之形態特徵和形態測量值的比對為主,但最近幾



圖五、*Hoplolaimus columbus* 雌蟲之光學影像形態:A, 蟲體靜止時形態(eg, 食道腺體;V, 陰門);B, 後側尾腺孔(p, 側尾腺孔);C, 蟲體頭端部分(o, 背食道腺體之開口位置);D, 尾部區(a, 肛門)。比例尺長度:A=100 微米;B-D=10 微米。

Fig. 5. Photomicrographs of *Hoplolaimus columbus*. Female, A: Whole body (eg, esophageal gland; v, vulva); B: Posterior phasmid (p, Phasmid); C: Anterior region (o, orifice of dorsal gland); D: Tail region (a, anus). Scale bars in A=100 μ m; in B-D=10 μ m.

年已有更多研究報告以基因體的 rDNA 序列進行比較 分析,藉以輔助傳統形態鑑定上的不足或進而據以設 計具種專一性之引子對 (species -specific primer) ^(234,5,67,19,24)。在本研究中,三種線蟲的各項形態測量平均 値在其各群間的差異極小,但其中仍有少數 3 群 (Sbral, Strul, Hco4) 的部分測量値和其他群間有較明顯 差異,但經由各 rDNA 片段之原始序列間及與其一致 性序列相互比較後,其相似度均高達 97 % 以上,因此 推測本研究中少數群內之部份形態測量値的差異應屬 種內變異(intraspecific variation)。

有關 Scutellonema spp. 和 Hoplolaimus sp. 在國內 之寄主範圍情形,黃氏等⁽¹⁵⁾於全省各類作物上共計採 集 10577 個根圈土樣,其中包括金針花(菜)和桂竹及 其他竹類等,除了在唐菖蒲上發現 Scutellonema spp.之 存在外,其餘樣本皆未檢視到該屬線蟲。另在金門地 區普遍存在的 Scutellonema spp.⁽²⁾,經再次採集尚義地 區的蔬菜園土樣,發現其中的螺旋線蟲皆屬於 Rotylenchus sp. (未發表資料),至於另外在高梁和許多 果樹種類上所記錄的 Scutellonema sp. 是否皆應為 Rotylenchus sp. 則仍有待進一步釐清。胡和曾二氏⁽¹⁴⁾在 調查全省台糖的蔗園,和杜氏等 20 探討南部七縣市主 要棉區之線蟲種類的報告中,雖皆載有 Hoplolaimus sp. 雌蟲和雄蟲的形態描述及雌蟲的圖片,但無進一步相 關的形態測量值資料。另黃氏等心在全省許多作物上 皆分離到 Hoplolaimus sp.,其中包括香蕉、甘蔗和柑桔 等作物,但是在大豆和棉花上都未檢視到該屬線蟲。 而依據國外文獻的記載,S. brachyurum 為一全世界廣 泛分佈的種類,且其寄主植物種類眾多⁽²¹⁾,而 S. truncatum 的寄主種類則較少,有記錄者僅無花果 (fig)、日本櫻桃 (Japanese cherry)、竹類及甘蔗等4種 作物(17,21),至於 H. columbus 除在美東南部海岸平原 (Coastal Plain) 上是大豆和棉花二大作物的重要病原線 蟲,許多其他的豆類作物 (legumes)、雜草或覆蓋作物 (cover crops) 亦係寄主(10,11,22)。另在巴基斯坦 (Pakistan) 地區⁽²⁰⁾,由香蕉的根系曾發現 H. columbus。但是依據 陳氏多年在台灣和金門地區為進行劍線蟲 (Xiphinema spp.)^(3,4,5,6,7),矮化線蟲 (Tylenchorhynchus spp., Paratrophurus spp.)、鞘線蟲 (Hemicriconemoides spp.)、環紋線蟲 (Criconemoides spp.)、釘線蟲 (Gracilacus spp., Paratylenchus spp.) 及螺旋線蟲



圖六、Hoplolaimus columbus 雌蟲之 SEM 影像形態 (Hcol): A, 唇部區 (lt, 垂直條溝;ts, 水平條溝); B, 蟲體後端 部分 (p, 側尾腺孔;t, 尾部); C, 後側尾腺孔 (i, 側帶溝; p, 側尾腺孔); D, 尾部 (i, 側帶溝)。比例尺長度: B=100 微米; A,C 和D=10 微米。

Fig. 6. SEM photomicrographs of *Hoplolaimus columbus* (Hco1). Female, A: Lip region (lt, longitudinal striation; ts, transverse striation); B: Posterior region (p, phasmid; t, tail); C: Posterior phasmid (i, incisure; p, phasmid); D. tail region (i, incisure). Scale bars in B=100 μ m; in A, C & D=10 μ m.

(Helicotylenchus spp.)等線蟲樣本之收集和鑑定,根據 採集的許多植物種類中(未發表資料),截至目前, S. brachyurum 僅存在於金花石蒜(石蒜科)、金針花 (菜)及松葉武竹(百合科)等三種花卉作物上,此與國 外報告所述之寄主範圍廣泛⁽²¹⁾不同,此可能由於分離 樣本群的來源不夠多元,亦或是在台灣之氣候和地理 環境及栽作物種影響,導致本線蟲在台灣之寄主範圍 有所改變,確切狀況則仍需進一步証實。另外有關 S. truncatum 的存在情形,本研究發現只在3 個地區的 竹園中分離得到,至於 H. columbus 在台灣地區只能從 香蕉(北蕉或芭蕉)園中發現,而過去在金門地區的高 梁、柿子及枇杷上所分離的 Hoplolaimus spp.⁽²⁾是否亦 爲 H. columbus 或爲其它的種類則有待再進一步採樣闡 明。

綜合上述,本研究中將台灣和金門地區的三種線 蟲(S. brachyurum、S. truncatum 和H. columbus)種類的 形態測量值進行了詳實的記錄,而且已將其包含完整 5.8S 基因和ITS-1及ITS-2區間序列的代表性rDNA片 段序列資料首次登錄在 GenBank 資料庫中,可供全世 界研究者於形態鑑定時另一重要佐證比對的資料。另 外在台灣地區的這三種線蟲種類,其寄主植物種類範 圍似較為專一,與國外研究結果有些許差異,未來將 於更多不同種類的田間,採集更多樣品,或於溫室內 培養直接進行不同作物的線蟲接種試驗,以釐清其寄 主範圍,期能正確地建立台灣和金門等地區各類作物 的線蟲種類和其分佈情形等的資料庫,以供國內檢防 疫單位進行政策擬定和施行之參考。

謝辭

本研究承行政院農業委員會動植物防疫檢疫局計 畫經費補助,並蒙金門縣政府動植物防疫所胡錫載所 長和李有世先生鼎力支持和協助田間採樣工作;農委 會農業藥物毒物試驗所蘇秋竹副研究員和李祈益先生 提供掃描式電子顯微鏡之相關儀器和技術指導,特致 謝忱。

引用文獻 (LITERATURE CITED)

- Bird, G. W., Brooks, O. L., Perry, C. E., Futral, J. G., Canerday, T. D., and Boswell, F. C. 1974. Influence of subsoiling and soil fumigation on the cotton stunt disease complex, *Hoplolaimus columbus* and *Meloidogyne incognita*. Plant Dis. Reptr. 58: 541-544.
- Chen, D. Y., Lee, Y. S., Yen, J. H., and Tsay, T. T. 2002. A preliminary investigation on plant-parasitic nematodes at Kinmen. J. Agric. Res. China 51: 31-38. (in Chinese with English abstract)
- Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., Cheng, Y. H., and Tsay, T. T. 2004. Variability within *Xiphinema elongatum* populations in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 13: 45-60. (in Chinese with English abstract)
- Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., Cheng, Y. H., and Tsay, T. T. 2004. Variability within *Xiphinema insigne* populations in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 13: 127-142. (in Chinese with English abstract)
- Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., Cheng, Y. H., and Tsay, T. T. 2004. Identification and variation of *Xiphinema hunaniense* populations from Taiwan. Plant Pathol. Bull. 13: 155-166. (in Chinese with English abstract)
- Chen, D. Y., Ni, H. F., Cheng, Y. H., and Tsay, T. T. 2004. Identification of *Xiphinema* species from Kinmen. Plant Pathol. Bull. 13: 237-241. (in Chinese with English abstract)
- Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., Cheng, Y. H., and Tsay, T. T. 2005. Differentiation of the Xiphinema americanum-group nematodes X. brevicollum, X. incognitum, X. diffusum and X. oxycaudatum in Taiwan by morphometrics and nuclear ribosomal DNA sequences. Nematology 7: 713-725.
- Fassuliotis, G., Rau, G. J., and Smith, F. H. 1968. *Hoplolaimus columbus*, a nematode parasite associated with cotton and soybean in South Carolina. Plant Dis. Reptr. 52: 571-572.
- 9. Fassuliotis, G. 1974. A description of males of *Hoplolaimus columbus*. J. Nematol. 6: 116-118.
- Fassuliotis, G. 1974. Host range of the Columbia lance nematode, *Hoplolaimus columbus*. Plant Dis. Reptr. 58: 1000-1002.
- Fassuliotis, G. 1976. *Hoplolaimus columbus*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 6, No. 81. Farnham Royal, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux.
- Graham, T. W. 1955. Pathogenicity of *Rotylenchus* brachyurus on tobacco and of *Criconemoides* sp. on tobacco and peanuts. Phytopathology 45: 347. (abstract)
- 13. Hu, C. H., and Chu, H. T. 1959. The nematode

investigation in sugarcane field of Taiwan . Taiwan Sugar Res. Inst. 19: 35-51. (in Chinese with English abstract)

- Hu, C. H., and Chu, H. T. 1964. The nematode investigation in sugarcane field of Taiwan (II). Taiwan Sugar Res. Inst. 33: 63-82. (in Chinese with English abstract)
- 15. Huang, C. S., Tsai, Y. P., Tu, C. C., Lin, Y. Y., and Huang, S. P. 1972. Plant parasitic nematodes in Taiwan, monograph series No. 1. Institute of Botany, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, ROC, 61 pp. (in Chinese with English abstract)
- Hung, Y. P., Hung, W. L., and Chen, C. S. 1966. Nematodes parasitic to banana and their distribution in Taiwan. Plant Prot. Bull. 8: 221-226. (in Chinese)
- Krall', E. L. 1990. Root parasitic nematodes- Family Hoplolaimidae. E. J. Brill, Leiden, 580 pp.
- Lewis, S. A., Smith, F. H., and Powell, W. M. 1976. Host-parasite relationships of *Hoplolaimus columbus* on cotton and soybean. J. Nematol. 8: 141-145.
- Oliveira, C. M. G., Fenton, B., Malloch, G., Brown, D. J. F., and Neilson, R. 2005. Development of species-specific primer for the ectoparasitic nematode species *Xiphinema brevicolle*, *X. diffusum*, *X. elongatum*, *X. ifacolum* and *X. longicaudatum* (Nematoda: Longidoridae) based on ribosomal DNA sequences. Ann. Appl. Biol. 146: 281-288.
- Saeed, M., and Ashrafi, S. H. 1973. The occurrence of some plant-parasitic nematodes with special reference to new hosts in West Pakistan. Pakistan J. Sci. Industr. Res. 6: 128-129.
- Sher, S. A. 1963. Revision of the Hoplolaiminae (Nematoda). III. Scutellonema Andrassy, 1958. Nematologica 9: 421-443.
- Sher, S. A. 1963. Revision of the Hoplolaiminae (Nematoda). II. *Hoplolaimus* Daday, 1905 and *Aorolaimus* n. gen. Nematologica 9: 267-295.
- Siddiqi, M. R. 1974. Scutellonema brachyurum. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 4, No. 54. Farnham Royal, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux.
- 24. Subbotin, S. A., Madani, M., Krall, E., Sturhan, D., and Moens, M. 2005. Molecular diagnostics, taxonomy, and phylogeny of the stem nematode *Ditylenchus dipsaci* species complex based on the sequences of the internal transcribed spacer-rDNA. Phytopathology 95: 1308-1315.
- Taylor, D. P. 1959. The male of Scutellonema brachyurum (Steiner, 1938) Andrassy, 1958. Proc. Helm. Soc. Wash. 26: 51-53.
- 26. Tu, C. C., Cheng, Y. S., and Kuo, F. L. 1972. An investigation on cotton nematodes of Taiwan and a

preliminary study on the effects of reniform nematode, root-knot nematode and stubby-root nematode on cotton. Plant Prot. Bull. 14: 95-109. (in Chinese with English abstract) Yu, P. C., and Tsay, T. T. 2003. Occurrence of a foliar nematode disease of fern in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 13: 35-44. (in Chinese with English abstract)

ABSTRACT

Chen, D. Y.¹, Chen, R. S.², Yen, J. H.³, Tsay, T. T.⁴, and Ni, H. F.⁵⁶. 2006. Species of spiral nematode and lance nematode (Nematoda: Hoplolaiminae) identified in Taiwan and Kinmen. Plant Pathol. Bull. 15:25-38. (¹ Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan; ² Graduate Institute of Biotechnology, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan ; ³ Agricultural Extension Center, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; ⁴ Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; ⁵ Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI, Taiwan; ⁶ Corresponding author, E-mail: hfni@dns.caes.gov.tw, Fax: +886-5-2773630)

Six populations of *Scutellonema brachyurum* (Steiner, 1938) Andrassy, 1958, three populations of *S. truncatum* Sher, 1963 and seven populations of *Hoplolaimus columbus* Sher, 1963 were collected and identified for the first time in Taiwan and Kinmen. Based on the external morphology, morphometrics and the sequence of internal transcribed spacer (ITS) region and 5.8S unit of the ribosomal DNA, the species taxon for each nematode population was confirmed. In this study, additional morphometric data and SEM figures for these three species were also provided. The sequence of representative rDNA fragment of each species was deposited in GenBank for the benefits of worldwide researchers.

Key words: spiral nematode, lance nematode, identification, *Scutellonema brachyurum*, *Scutellonema truncatum*, *Hoplolaimus columbus*, ribosomal DNA