

線蟲蟲齡對 *Meloidogyne javanica* 及 *Pratylenchus coffeae* 侵入紅豆 與蘿蔔苗根部速率之影響

蔡碧雲

台北市 國立台灣大學植物病理學系

電子郵件：bieyntm@ccms.ntu.edu.tw；傳真：02-23636490

接受日期：中華民國 90 年 3 月 20 日

摘 要

蔡碧雲. 2001. 線蟲蟲齡對 *Meloidogyne javanica* 及 *Pratylenchus coffeae* 侵入紅豆與蘿蔔苗根部速率之影響. 植病會刊 10:65-70.

蘿蔔汁 (稀釋比例 1:2) 可 100% 抑制 *Meloidogyne javanica* 及 *Pratylenchus coffeae* 對紅豆苗根部之侵入，以之作為侵入抑制劑，有助於對線蟲侵入速度之研究。結果發現線蟲的培養與保存時間及植物種類皆對於 *M. javanica* 及 *P. coffeae* 之侵入速度有影響。*M. javanica* 保存於 15℃ 下平均為 26 天之二齡幼蟲侵入速度較平均保存僅 3.5 天者慢，且最終之侵入率僅約為後者之四分之一。保存時間相同之二齡幼蟲侵入紅豆苗根部之速度比侵入蘿蔔苗者快，但最終之侵入率沒有差異。由於實驗用的 *P. coffeae* 線蟲並非由卵塊孵化，其蟲齡難以單獨計算，故以整個 Gamborg's B5 平板上之線蟲的培養天數為代表，稱為培養齡。*P. coffeae* 之培養齡 30 天者侵入紅豆苗根部之速度比培養齡 63 天及 96 天者快，且最終侵入率也較高。*P. coffeae* 對紅豆苗根部之侵入速度比對蘿蔔苗者快。兩種線蟲皆可在接種後立即侵入紅豆苗根部。接種後 60 分鐘，*M. javanica* 已有 9.4% 之線蟲侵入，而 *P. coffeae* 有 7.0% 侵入。

關鍵詞： *Meloidogyne javanica*、*Pratylenchus coffeae*、侵入速度、侵入率、染色

緒 言

線蟲對植物根部的侵入過程是很多研究必經的步驟，例如抗線蟲品種的篩選、殺線蟲劑的防治效果、輪作的相關研究、土壤添加物的防治效果、感病寄主與線蟲之間的關係等，皆與線蟲的侵入有關。侵入根內的線蟲可藉由各種染色方法⁽⁵⁾ 染色之後於顯微鏡下觀察，在研究上提供了相當大的便利。Townshend & Wolynetz⁽¹⁰⁾ 利用 cotton blue-lactophenol 染色來研究 *Pratylenchus penetrans* Cobb 對芹菜及苜蓿根部之侵入。蔡⁽²⁾ 利用 acid-fuchsin 染色來研究 *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood 對紅豆苗根部之侵入，並以之為生物檢定法來篩選天然線蟲防治劑。然而線蟲侵入根部之速度受各種因素影響，除了線蟲與根部的距離及其間的土壤或栽培介質的性質外，植物種類、溫度，線蟲種類、及線蟲蟲齡皆有可能影響線蟲侵入根部之速度，進而影響研究之結果。太早染色，所觀察到之根內線蟲數目不具代表性，因為所接種之線蟲尚有大多數來不及侵入。太晚染色，所接種之線蟲雖皆有機會侵入，但缺乏經濟效益，不僅耗費研究時日，且根系變得太大，觀察費時且準確度降低。若取根系之部分樣品來觀察，例如以

一公克之根為觀察對象，則有誤差增大的困擾，因為線蟲侵入後在根內的分佈很可能不均勻。當然有些試驗因目的不同而需在根系很大時取部份樣品來觀察則另當別論，例如蔡等⁽¹⁾ 以 10 公分根段上之柑桔線蟲數目作為評估對象。接種後多久才染色關係到實驗的準確性及研究效率，而染色的時機取決於線蟲的侵入速度。本研究之目的在探討線蟲蟲齡及植物種類對 *M. javanica* 及 *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Schuurmans Stekhoven 侵入速度的影響。

材料與方法

線蟲接種源之製備

爪哇根瘤線蟲 *M. javanica* 最初由國立台灣大學試驗農場之芋頭根圈分離而得，培養於生長袋 (Seed-Pack Growth Pouch, Mega International of Minneapolis) 中之綠豆苗根部。待卵塊成熟後在解剖顯微鏡下用細鑷子將卵塊取下於 28℃ 下孵化。孵卵裝置乃將壓縮過之保麗龍材質之免洗小碟子割很多個小洞變成像網子一樣，上面放兩層面

紙，然後置於小培養皿（直徑 5.4 公分）中，再加蒸餾水將面紙沾濕，並使水面保持在剛可淹滿卵塊的程度，然後將卵塊挑到面紙上孵化，並蓋上小培養皿之蓋子。每天將皿中之水及孵出之二齡幼蟲倒入三角瓶中保存於 15℃，並換新鮮之蒸餾水於孵卵裝置中。在接種前將線蟲懸浮液濃縮或稀釋至所需之濃度。每株苗接種 400 隻二齡幼蟲。

根腐線蟲 *P. coffeae* 最初由柑桔園分離而得，經雙氧水表面消毒 2 分鐘後挑至 Gamborg's B5 培養基 (GIBCO) 平板上之胡蘿蔔根，置於 27℃ 之恆溫箱培養。以改良式柏門氏漏斗分離，每天收集保存於 15℃，在接種前將線蟲懸浮液濃縮或稀釋至所需之濃度。每株苗接種 250 隻或 200 隻。

上述各線蟲懸浮液之接種用容積為每株 1 ml，以免影響蘿蔔汁之濃度。

供試植物

紅豆種子經 70% 乙醇表面消毒四分鐘後，播種於高溫高壓消毒過之沙土中。發芽後五天將苗移植於裝有 200g 消毒沙土之塑膠杯中（直徑 7 cm），每杯一株，以供接種之用。蘿蔔苗之準備步驟與紅豆苗同，發芽後三天即可移植供試驗用。

蘿蔔汁之製備

蘿蔔洗淨秤重後切成小塊，置果汁機中加兩倍之蒸餾水，以高速 30 秒萃榨汁液。每個處理每杯需 30 ml 之汁液，以此推算所需之蘿蔔重量。

蘿蔔汁作為線蟲侵入抑制劑之效果

供試紅豆苗每杯接種 *M. javanica* 二齡幼蟲 400 隻或 *P. coffeae* 250 隻，每杯接種後立刻澆入蘿蔔汁 30 ml，對照組則澆入 30 ml 之蒸餾水。每個處理有四個重複。接種後置於 28℃ 生長箱。三天後取出用 acid-fuchsin⁽⁴⁾ 將根染色。然後在解剖顯微鏡下計算每個根系內之線蟲數目。

線蟲保存時間與植物種類對 *M. javanica* 侵入速度之影響

二齡幼蟲孵化後保存於 15℃ 23-29 天，平均保存 26 天者簡稱為老幼蟲，保存於 15℃ 2-5 天，平均保存 3.5 天者簡稱為新幼蟲。一組紅豆苗每株接種老幼蟲 400 隻，另一組每株接種新幼蟲 400 隻。蘿蔔苗每株接種新幼蟲 400 隻。每株幼苗接種後置於 28℃ 生長箱並在一定時間取出澆入 30 ml 蘿蔔汁以抑制線蟲之侵入，然後再放回 28℃ 生長箱。澆蘿蔔汁之時間設定為接種後 0, 1, 4, 8, 12, 24, 48, 72 小時。各處理四重複。接種後 72 小時將幼苗全數取出用 acid fuchsin⁽⁴⁾ 染根。然後在解剖顯微鏡下計算各根系內之線蟲數目。

線蟲培養齡對 *P. coffeae* 侵入速度之影響

根腐線蟲並非由卵塊孵化，很難單獨計算線蟲蟲齡，故以整個 Gamborg's B5 平板上之線蟲的培養天數為代表，稱之為培養齡。培養齡 30 天之根腐線蟲每株紅豆苗接種 250 隻，並於接種後 0, 1, 4, 72 小時澆入蘿蔔汁以抑制線蟲侵入。培養齡 63 天者每株紅豆苗接種 200 隻線蟲，並於接種後 0, 1, 4, 8, 12, 24, 48, 72 小時澆入蘿蔔汁。培養齡 96 天者每株紅豆苗接種 250 隻線蟲，並於接種後 0, 1, 8, 24, 72 小時澆入蘿蔔汁。各處理四重複。全部幼苗於接種後皆保存於 28℃ 生長箱，僅澆蘿蔔汁時取出於室溫操作。接種後 72 小時，取出幼苗用 acid fuchsin⁽⁴⁾ 染根。然後在解剖顯微鏡下計算各根系內之線蟲數目。

植物種類對 *P. coffeae* 侵入速度之影響

每株紅豆苗及蘿蔔苗各接種培養齡 47 天之根腐線蟲，並於接種後 0, 1, 4, 8, 12, 24, 72 小時澆入蘿蔔汁以抑制線蟲侵入。各處理四重複。其餘步驟與上述相同。

Meloidogyne javanica 與 *P. coffeae* 在一小時內之侵入情況

每株紅豆苗分別接種 400 隻孵化後平均保存於 15℃ 下 3 天之 *M. javanica* 或 200 隻培養齡 30 天之 *P. coffeae*。澆蘿蔔汁之時間設定為接種後 0, 15, 30, 60 分鐘，另有一組設定為接種後 72 小時，以便與其他試驗之 72 小時之侵入率作比較，以確定接種結果屬於正常狀態。各處理四重複。其餘步驟與上述相同。

結 果

蘿蔔汁可 100% 抑制 *M. javanica* 及 *P. coffeae* 對紅豆苗根部之侵入 (表一)。接種後 72 小時，對照組已有 29.7% 之 *M. javanica* 及 17.4% 之 *P. coffeae* 侵入紅豆苗根部，而澆蘿蔔汁者完全沒有線蟲侵入。

Meloidogyne javanica 之老幼蟲 (孵化後平均保存於 15℃ 下 26 天) 侵入之速度及最終之侵入率皆低於新幼蟲 (孵化後平均保存於 15℃ 下 3.5 天) (表二)，接種後 4 小時，新幼蟲已有 2.2% 侵入紅豆苗根部而老幼蟲僅有 0.4% 侵入，接種後 72 小時新幼蟲之侵入率為 34.9% 而老幼蟲僅有 7.6%。同樣接種新幼蟲，蘿蔔苗之最終侵入率與紅豆苗者幾乎無差別，前者為 36.4%，後者為 34.9% (表二)；但侵入速度顯然不同。*M. javanica* 對紅豆苗根部之侵入在接種後 4 小時就已超越蘿蔔苗，而接種後 24 小時紅豆苗已有 37.7% 之線蟲侵入，蘿蔔苗卻只有 9.5%。

培養時間對 *P. coffeae* 之侵入速度也有顯著的影響。培養齡 30 天者在接種後一小時已有 8.7% 之線蟲侵入紅豆苗根部，但培養齡 63 天者尚無線蟲侵入 (表三)。培養齡

表一、蘿蔔汁¹處理對 *Meloidogyne javanica* 及 *Pratylenchus coffeae* 在紅豆苗根部侵入率之影響²

Table 1. Effect of radish juice¹ on the penetration rate of *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus coffeae*² on adzuki bean roots.

Nematode	Penetration rate (%) ³	
	Radish juice	Distilled water
<i>M. javanica</i>	0	29.7
<i>P. coffeae</i>	0	17.4

¹. Dilution factor 1:2 (w/v).

². Adzuki bean seedlings grown in plastic cups with sterile sand were used as the bioassay hosts. Each plant was inoculated with 400 second-stage juveniles of *M. javanica* or 250 mixed stages of *P. coffeae* and kept at 28 °C in a growth chamber for three days.

³. Mean of four replicates. Penetration rate (%) = No. of nematodes in the root system after staining with acid fuchsin ÷ No. of nematodes inoculated × 100%.

表二、線蟲保存時間及植物種類對 *Meloidogyne javanica* 侵入速度之影響

Table 2. Effect of nematode age and plant species on the penetration speed of *Meloidogyne javanica*

Times after inoculation (hours)	Penetration rate (%) ¹		
	Azuki bean		Radish ³
	Old juveniles ²	Young juveniles ¹	
0	0 g ⁴ A ⁵	0 e A	0 g A
1	0 g A	0 e A	0 g A
4	0.4 f C	2.2 d A	0.6 f B
8	6.3 d B	11.7 c A	1.9 e C
12	6.6 c B	13.1 bc A	3.9 d C
24	8.1 a C	37.7 a A	9.5 c B
48	4.0 e C	13.8 b B	15.0 b A
72	7.6 b C	34.9 a B	36.4 a A

¹. Mean of four replicates. Penetration rate (%) = No. of nematodes in the root system after staining with acid fuchsin ÷ No. of nematodes inoculated × 100 %.

². Kept at 15 °C for 23-(26)-29 days after hatching.

³. Kept at 15 °C for 2-(3.5)-5 days after hatching.

⁴. Means followed by the same small letter in each column do not differ significantly (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

⁵. Means followed by the same capital letter in each row do not differ significantly (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

96 天者雖然在接種後立即有線蟲侵入，但為極少數。接種後 24 小時，培養齡 63 天者已有 12.9% 之線蟲侵入，而培養齡 96 天者僅有 4.2% 之線蟲侵入。接種後 72 小時之最終侵入率培養齡 30 天者為 18.1%，培養齡 63 天者為 14.4%，而培養齡 96 天者僅有 4.1%。植物種類對 *P. coffeae* 之侵入速度也有影響(表四)。紅豆苗在接種後 1 小時已有 7.1% 之侵入率，而蘿蔔苗僅有 0.2%。在 24 小時之

內，兩者之侵入率皆隨著時間而增加，但紅豆苗之侵入率一直高於蘿蔔苗。

在 15 分鐘內，*P. coffeae* 之侵入率高於 *M. javanica*，然隨時間增長 *M. javanica* 之侵入率亦增高(表五)。*P. coffeae* 在接種後立即有 3.6% 之線蟲侵入紅豆苗根部，而 *M. javanica* 僅有 0.1% 之侵入率。但在接種後 30 分鐘，兩者之侵入率大致相等。其後 *M. javanica* 之侵入率開始逐漸超越 *P. coffeae*。在接種後 4320 分鐘(72 小時) *M. javanica* 之侵入率為 24.4%，*P. coffeae* 之侵入率為 17.1%。

討 論

本研究所採用之染色方法⁽⁴⁾不用對人體有毒之酚(phenol)，較合乎環保要求。Daykin & Hussey⁽⁵⁾所彙整之各種染色方法中，有多種用到 lactophenol，而 Sodium-Hypochlorite-Acid Fuchsin Method⁽⁴⁾利用漂白水來軟化及透化根部組織，不用酚或酚化合物，可減少有毒廢棄物之產生，較值得推薦。

本研究利用蘿蔔汁來及時抑制線蟲之侵入，各處理一併染色，大幅增加操作上之便利。由表一可見濃度 1:2(w/v) 之蘿蔔汁可 100% 抑制 *M. javanica* 及 *P. coffeae* 對紅豆苗根部之侵入。作者⁽²⁾已發現多種常見蔬菜及辛香料之汁液對線蟲之侵入有很高之抑制效果。蘿蔔多汁且易打碎，因此作為本研究之線蟲侵入抑制劑。

Bleve-Zacheo, *et al.*⁽³⁾曾報告 *M. incognita* 侵入甜椒根部之速度在感病品系比抗病品系快很多。本研究結果顯示同樣是感病寄主也會有侵入速度之差異。*M. javanica* 對紅豆苗及蘿蔔苗之侵入率在接種後 72 小時雖然大致相同(表二)，但紅豆苗之侵入率在接種後 8 小時已大幅領先蘿蔔苗。*P. coffeae* 對紅豆苗之侵入率更早在接種後 1 小時就已領先蘿蔔苗(表四)。

線蟲侵入寄主需要消耗能量，因此保存時間短的線蟲(新幼蟲)理當比保存時間較長者(老幼蟲)侵入速度快。*M. javanica* 之二齡幼蟲平均保存於 15 °C 下 26 天後在接種後 4 小時只有 0.4% 已侵入紅豆苗根內，而平均保存於 15 °C 下 3.5 天之較新鮮幼蟲有 2.2% 已侵入(表二)。在接種後 24 小時，新幼蟲已有 37.7% 已侵入根部，而老幼蟲只有 8.1% 已侵入。Ngundo & Taylor⁽⁸⁾也發現 *M. javanica* 及 *M. incognita* 剛孵出之幼蟲若置於室溫超過 24 小時後才接種，就失去侵入寄主的能力，可能線蟲身體在室溫中 24 小時已變衰弱之故。本研究所用之老幼蟲(表二)乃於孵化後保存於 15 °C 者，能量之消耗較緩慢，因此尚有少數保有侵入寄主的能力。Thomason, *et al.*⁽⁹⁾也曾報告 *M. javanica* 貯存於 27 °C 超過 4 天者接種後產生之根瘤數目遠低於貯存於 15 °C 者。*P. coffeae* 之線蟲年齡對於侵入速度也是有顯著之影響(表三)。培養齡 30 天之線蟲在接種後 1 小時已有 8.7% 侵入紅豆苗根部，而培養齡 63 天者在接種後 8 小

表三、*Pratylenchus coffeae* 線蟲培養齡¹對紅豆苗根部侵入速度之影響Table 3. Effect of nematode cultivation times¹ on the penetration speed of *Pratylenchus coffeae* on Adzuki bean root.

Time after inoculation (h)	Penetration rate (%) ²		
	30 days ¹	63 days	96 days
0	0 d ⁴ B ⁵	0 f B	0.1 d A
1	8.7 c A	0 f C	0.5 c B
4	11.0 b A	0 f B	- ³
8	- ³	0.8 e B	2.9 b A
12	-	3.4 d	-
24	-	12.9 c A	4.2 a B
48	-	13.3 b	-
72	18.1 a A	14.4 a B	4.1 a C

¹ Due to the difficulty in recording the age of individual nematode, the nematode age was represented by the number of days of the whole population cultured on excised roots in Gamborg's B5 medium.

² Mean of four replicates. Penetration rate (%) = No. of nematodes in the root system after staining with acid fuchsin ÷ No. of nematodes inoculated × 100%.

³ Not done.

⁴ Means followed by the same small letter in each column do not differ significantly (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

⁵ Means followed by the same capital letter in each row do not differ significantly (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

表四、植物種類對 *Pratylenchus coffeae*¹ 侵入速度之影響Table 4. Effect of plant species on the penetration speed of *Pratylenchus coffeae*.¹

Time after inoculation (h)	Penetration rate (%) ²	
	Adzuki bean	Radish
0	0 g ³ A ⁴	0 g A
1	7.1 f A	0.2 f B
4	8.0 e A	0.7 e B
8	9.4 d A	5.2 d B
12	15.6 c A	8.6 c B
24	18.7 a A	11.9 b B
72	16.9 b A	12.4 a B

¹ Culture age 47 days. Inoculum level: 250 nematodes/ plant.

² Mean of four replicates. Penetration rate (%) = No. of nematodes in the root system after staining with acid fuchsin ÷ No. of nematode inoculated × 100%.

³ Means followed by the same small letter in each column do not differ significantly (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

⁴ Means followed by the same capital letter in each row do not differ significantly (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

時僅有 0.8% 侵入。接種後 24 小時，培養齡 96 天者僅 4.2% 已侵入，而培養齡 63 天者已有 12.9% 侵入。顯然線蟲越老侵入速度越慢，且最後之總侵入率也較低。

表五、*Meloidogyne javanica*¹ 與 *Pratylenchus coffeae*² 對紅豆苗根部侵入速度之比較Table 5. Comparison of the penetration speed of *Meloidogyne javanica*¹ and *Pratylenchus coffeae*² on Adzuki bean root.

Times after inoculation (minutes)	Penetration rate (%) ³	
	<i>M. javanica</i>	<i>P. coffeae</i>
0	0.1 f ⁴ B ⁵	3.6 d A
15	0.6 e B	3.7 d A
30	2.5 d A	2.6 e A
45	5.4 c A	4.9 c B
60	9.4 b A	7.0 b B
4320	24.4 a A	17.1 a B

¹ Second-stage juveniles kept at 15 for 1-5 days, average age 3 days. Inoculum level: 400 nematodes/plant.

² Culture age 30 days. Inoculum level: 200 nematodes/plant.

³ Mean of four replicates. Penetration rate (%) = No. of nematodes in the root system after staining with acid fuchsin ÷ No. of nematodes inoculated × 100%.

⁴ Means followed by the same small letter in each column do not differ significantly (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

⁵ Means followed by the same capital letter in each row do not differ significantly (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.

Godfrey & Oliveira⁽⁶⁾ 發現 *Meloidogyne* sp. (當時稱為 *Heterodera radicolica*) 之幼蟲在接種後 6 小時開始侵入鳳梨根部。Gourd, et al.⁽⁷⁾ 發現 *Heterodera glycines* Ichinohe 在接種後 1 小時已有少數幼蟲侵入大豆根部，而 *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood 及 *M. javanica* 在接種後 1 小時內都沒有線蟲侵入，在 3 小時後才開始有少數幼蟲侵入 (< 1%)。 *M. hapla* 則在接種後 6 小時內都沒有幼蟲侵入大豆根部，在 24 小時後有 5% 之幼蟲侵入。表四之結果顯示 *P. coffeae* 在接種後 1 小時內有 7.1% 已侵入紅豆苗根部，因此本研究更進一步探討線蟲侵入之速度。由表五可見一接種完立刻就有線蟲侵入。接種後有 3.6% 之 *P. coffeae* 已立即侵入根部，而 *M. javanica* 也有 0.1% 已侵入。此項發現突顯田間及苗圃之衛生管理在線蟲防治上之重要性。若讓乾淨之種苗與線蟲之污染源接觸，即使是短時間就移開，也可能已被線蟲感染。同樣的觀念也可用在受檢線蟲污染之進口栽培介質之管理，在銷燬之前絕對不能讓其有機會接觸到本地植物。

Pratylenchus coffeae 雖然在接種後 15 分鐘內之侵入率領先 *M. javanica*，但在 4320 分鐘 (72 小時) 後之侵入率卻低於 *M. javanica* (表五)，可能是紅豆苗對 *M. javanica* 比對 *P. coffeae* 更感病之故。至於為何接種後立即就有線蟲侵入，可能是有些細根因位置的關係，在接種後馬上就接觸到線蟲而使線蟲有機會立即侵入。表三中培養齡 96 天之線蟲在接種後 *P. coffeae* 在接種後立即就已有 0.1% 侵入，可能也是這個緣故。

在接種後 1 小時，*P. coffeae* 對紅豆苗根部之侵入率在表四與表五兩個試驗幾乎一樣，前者為 7.1%，後者為 7.0%，顯示試驗結果相當穩定。*M. javanica* 在接種後 1 小時對紅豆苗根部之侵入率在不同試驗（表二、表五）中之差異則較大，可能與根系中細根之位置有關。

雖然 *M. javanica* 在接種後 24 小時對紅豆苗根部之侵入率與接種後 72 小時者並無太大差異（表二），但接種後 48 小時之侵入率偏低，顯示在 2 天之內之試驗結果不夠穩定，因此建議一般之試驗在接種後 3 天才染色結果較為可靠。紅豆苗在接種後 3 天根系尚未過度擴張，不會增加操作上太多的負擔。根據表二，*M. javanica* 在蘿蔔苗之侵入結果之染色也是在接種後 3 天較恰當。*P. coffeae* 對紅豆苗及蘿蔔苗根部之侵入率雖然也是在接種後 24 小時就與 72 小時者很接近（表四），但為顧及細根位置或其他因素可能影響線蟲與細根接觸之速度，也是建議在接種後 3 天才染色更加可靠。

謝 辭

本研究承蒙行政院農業發展委員會研究計畫 [84 科技-1.3-糧-31-1(6-2-2)] 經費補助，謹此致謝。

引用文獻

1. 蔡東纂. 吳文希. 林奕耀. 程永雄. 1997. 台灣柑桔線蟲之發生及其生物型種內變異. 植病會刊 6: 111-122.
2. 蔡碧雲. 2000. 應用根部侵入生物檢定法篩選天然線蟲防治劑. 植病會刊 9: 131-136.
3. Bleve-Zacheo, T., Bongiovanni, M., Melillo, M.T., and Castagnone-Sereno, P. 1998. The pepper resistance genes Me 1 and Me 3 induce differential penetration rates and temporal sequences of root cell ultrastructural changes upon nematode infection. Plant Sci. 133: 79-90.
4. Byrd, D.W., J., Kirkpatrick, T., and Barker, K.R. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. J. Nematol. 15: 142-143.
5. Daykin, M.E., and Hussey, R.S. 1985. Staining and histopathological techniques in nematology. Pages 39-48 in: An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol. II. Methodology. K.R. Barker, C. C. Carter, and J.N. Sasser eds. North Carolina State University Graphics. U.S.A., 223 pp.
6. Godfrey, G.H., and Oliveira, J. 1932. The development of the root-knot nematode in relation to root tissues of pineapple and cowpea. Phytopathology 22: 325-348.
7. Gour, T.R., Schmitt, D.P., and Barker, K.R. 1993. Penetration rates by second-stage juveniles of *Meloidogyne* spp. and *Heterodera glycines* into soybean roots. J. Nematol. 25 (1): 38-41.
8. Ngundo, B.W., and Taylor, D.P. 1975. Some factors affecting penetration of bean roots by larvae of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. Phytopathology 65: 175-178.
9. Thomason, I.J., Van Gundy, S.D., and Kirkpatrick, J.D. 1964. Motility and infectivity of *Meloidogyne javanica* as affected by storage time and temperature in water. Phytopathology 54: 192-195.
10. Townshend, J.L., and Wolynetz, M.S. 1991. Penetration of celery and alfalfa roots by *Pratylenchus penetrans* as affected by Temperature. J. Nematol. 23 (2): 194-197.

ABSTRACT

Tsai, B.Y. 2001. Effect of nematode age and plant species on the penetration speed of *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus coffeae*. Plant Pathol. Bull. 10:65-70. (Department of Plant Pathology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R.O.C. E-mail: bieyntm@ccms.ntu.edu.tw; Fax: 02-23636490)

Radish juice (Dilution factor 1: 2 (w/v)) was found to be 100 % effective on inhibiting the penetration of *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus coffeae* on the roots of Adzuki bean seedlings. Using it as a penetration-inhibiting agent greatly facilitated the research on the penetration speed of nematodes. Both storage and cultivation times of nematodes and plant species were found to affect the penetration speed of *M. javanica* and *P. coffeae*. The penetration speed of the second-stage juveniles of *M. javanica*, after stored at 15 °C for 26-days, was much slower than those of juveniles stored for 3.5 days, and the final penetration rates (%) of the former were only approximately one fourth of the latter. The juveniles stored for the same periods of times penetrated into the roots of Adzuki bean much faster than into the roots of radish, but the final penetration rates were not significantly different. Due to the difficulty in recording the age of individual *P. coffeae*, the nematode age was represented by the number of days of the whole population cultured on excised roots in Gamborg's B5 medium and was termed culture-age. The penetration speed and the final penetration rate of *P. coffeae* nematodes at the culture-age of 30-days were faster and higher than those of nematodes cultivated for 63-days and 96-days on the roots of Adzuki bean. *P. coffeae* penetrated into the roots of Adzuki bean faster than into the roots of radish. Both *M. javanica* and *P. coffeae* were capable of penetrating into the roots of Adzuki bean immediately after inoculation. There were 9.4 % of *M. javanica* and 7.0% of *P. coffeae* penetrated into the roots 60 minutes after inoculation.

Key words: nematode age, *Meloidogyne javanica*, *Pratylenchus coffeae*, penetration speed, penetration rate, staining