

台灣地區根腐線蟲 *Pratylenchus coffeae* (Nematoda: Pratylenchidae) 之鑑定

陳殿義¹ 倪蕙芳² 蔡東纂³ 顏志恒^{4,5}

¹ 台中縣 行政院農業委員會農業試驗所 植物病理組

² 嘉義市 行政院農業委員會農業試驗所嘉義分所 植物保護系

³ 台中市 國立中興大學植物病理學系

⁴ 台中市 國立中興大學農業推廣中心

⁵ 聯絡作者，電子郵件：jhyen@nchu.edu.tw；傳真：+886-4-22860267

接受日期：中華民國 101 年 4 月 24 日

摘要

陳殿義、倪蕙芳、蔡東纂、顏志恒. 2011. 台灣地區根腐線蟲 *Pratylenchus coffeae* (Nematoda: Pratylenchidae) 之鑑定. 植病會刊 20: 26-38.

自 2007 年 10 月起至 2011 年 3 月止，從台灣地區的甜橙、桶柑、文旦、檸檬、酪梨、葡萄的根部及山藥塊莖上，以改良式柏門氏漏斗分離法共計分離到 8 個根腐線蟲 (*Pratylenchus* spp.) 種群。經由光學顯微鏡和 SEM 的形態特徵觀察，該 8 個根腐線蟲種群皆具有唇部低平，唇部上具有 2 個體環 (annules)，唇端上之唇盤 (labial disc) 和唇板 (labial plate) 融合而呈現為平滑面 (smooth face)；尾部尾端大多呈現截頭形 (truncate)，少數為鈍狀圓突形 (bluntly pointed)。另外由形態測量值 (morphometrics) 的比對分析，並輔以包含完整內轉錄區間 ITS-1 和 ITS-2 和 5.8S 基因，以及部分 18S 和 28S 基因序列的核糖體 DNA (ribosomal DNA, rDNA) 片段序列的相同度 (identity) 比較，因此將該 8 個根腐線蟲種群皆鑑定為 *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941。*P. coffeae* 的 rDNA 片段代表性序列大小為 1249 bp，其中 ITS-1、ITS-2 及 5.8S 的序列大小，依序分別為 484 bp、311 bp 及 157 bp。

關鍵詞：根腐線蟲、鑑定、形態測量值、核糖體 DNA、*Pratylenchus coffeae*

緒言

根腐線蟲 (root-lesion nematode, *Pratylenchus* Filipjev, 1936) 為全球各地主要作物的重要病原線蟲種類之一，屬於內寄生潛移性線蟲 (migratory endoparasites)，線蟲蟲體侵入根部或塊莖的皮層 (cortex) 組織內移行取食和繁殖，因此於組織外部表皮上會出現局部褐化壞疽病斑，嚴重時整個根系腐爛，進而造成植株地上部之葉片逐漸縮小或黃化、停止抽梢和植株矮化等生育不良之病徵^(3,23,24)，其為害作物之經濟重要性層

級僅次於根瘤線蟲 (root-knot nematode, *Meloidogyne* spp.) 和包囊線蟲 (cyst nematode)^(3,27)。

截至目前台灣地區之根腐線蟲種類共計有 *P. brachyurus*⁽²¹⁾、*P. coffeae*^(20,35)、*P. loosi*^(34,35)、*P. penetrans*^(21,35)、*P. pratensis*^(18,31,32) 及 *P. zeae*⁽¹⁰⁾ 等 6 種，其中 *P. coffeae* 為 Huang 和 Chiang 氏 (1976)⁽²⁰⁾ 於嘉義縣竹崎鄉 (Chu-Chi Hsiang) 的柑橘 (citrus) 園中首次發現，而 Wu 等 (2002)⁽³⁵⁾ 於柑橘根系上所分離之根腐線蟲亦鑑定為 *P. coffeae*。

根腐線蟲 *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev &

Schuermans Stekhoven, 1941 的模式寄主 (type host) 為咖啡樹 (coffee, *Coffea* sp.)，而模式地點 (type locality) 為印度尼西亞國的西瓜哇島 (western Java) 上的 Bogor 地區^(28,29)。至今已知 *P. coffeae* 廣泛分佈於全世界各地^(3,23,29)，包括亞洲、北美洲、中南美洲、歐洲和非洲等，且其寄主植物範圍廣，最常被報導的作物除咖啡樹外，主要作物包含柑橘、香蕉 (鮮食或烹飪用品種)、棉花、葡萄、山藥、芒果、甘藷、竹及菊花等。

根腐線蟲屬 (*Pratylenchus* spp.) 的形態特徵明顯，主要為雌蟲體型中段肥胖、頭唇部低平 (flat)，口針 (stylet) 粗大且其基部結球 (basal knot) 明顯，後部食道腺體與腸道 (intestine) 間呈現腹面重疊方式，陰門位於蟲體的後半端 (V, 70-80%)^(3,23,30) 等，但是有關於種 (species) 層級鑑定的特徵較少，而且這些特徵常被認為具有種內變異 (intraspecific variability) 的現象^(13,16)。由於對各項鑑定特徵之變異程度的認知不同，因此許多學者在同一時期所發表的報告中，對於根腐線蟲有效種類 (valid species) 的認知就有 49 個⁽¹⁵⁾、55 個⁽²⁾ 及 63 個⁽¹⁶⁾ 的差別。雖然線蟲形態學仍是現今線蟲種類鑑定的主流，但是應用分子生物學的新方法和技術，對於輔助線蟲的傳統分類系統和實際診斷鑑定方法的建立亦日趨重要^(1,5,8,12,14,17,25)。自 2007 年 10 月起，筆者等開始進行本國根腐線蟲調查鑑定研究，其中由甜橙、桶柑、文旦、酪梨、山藥、葡萄及檸檬等 7 種作物上分離到的 8 個根腐線蟲種群 (populations)，經由雌蟲和雄蟲的光學顯微鏡和掃描電子顯微鏡 (SEM) 的形態特徵觀察、形態測量值 (morphometrics) 比較分析，以及供試種群間的核糖體 DNA (ribosomal DNA, rDNA) 片段序列相同度 (identity) 比對分析後，將該 8 個根腐線蟲種群皆鑑定為 *P. coffeae*，茲將鑑定方法和結果詳述如後。

材料和方法

供試根腐線蟲 *P. coffeae* 之來源與樣本製備

供試 8 個根腐線蟲種群的採集地點和作物分別為南投縣草屯的柳橙 (Tsautuen, sugar orange, Pcof1)、台中市石岡的桶柑 (Shihkang, tankan, Pcof2)、台南市麻豆的文旦和酪梨 (Madou, buntan & avocado, Pcof3 & Pcof6)、高雄市旗山的檸檬 (Chishan, lemon, Pcof4)、南投縣名間的山藥 (Mingchien, Yam, Pcof5) 及彰化縣溪湖的葡萄 (Shihu, grape, Pcof7 & Pcof8) (表一)。除 Pcof5 的根腐線

蟲樣本來源是山藥的罹病塊莖組織外，其餘 7 個供試種群是從上述地區的栽培園中，以小鐵鏟挖取 3-5 個植株的根系，分別放入塑膠封口袋中保存。其中根系樣本是以清水沖洗後，以採集剪切成約 1 公分長的片段，另以湯匙挖取山藥塊莖上的黑褐色罹病組織後，再取適量之根段或病組織塊於二層衛生紙上，以改良式柏門氏漏斗分離法進行線蟲分離。上述根系和病組織塊樣本經隔夜靜置後，將玻璃指形管內之線蟲懸浮液倒入小鏡檢皿中，於 20-80 放大倍率的解剖顯微鏡下檢視根腐線蟲數量，並以拉細之玻璃吸管吸取足量之根腐線蟲至清水中漂洗後，再吸取 30-50 隻雌蟲至微量離心管中，進行線蟲基因體 (genomic DNA) 萃取純化和低溫保存，同時將剩餘之根腐線蟲以 2% 福馬林溶液 (formaldehyde solution) 殺死及固定，以供後續進行雌蟲和雄蟲的形態構造測量、SEM 觀察及標本保存所需。

線蟲形態測量與電子顯微鏡觀察

根腐線蟲的形態和器官構造的測量方法，首先是以滴管將保存線蟲的福馬林溶液適量地滴在載玻片上，再以挑針挑取 3-5 隻雌蟲和雄蟲樣本至滴液中央，蓋上蓋玻片後，於福馬林溶液未風乾前，首先立即以 200 倍放大倍率拍攝體長和陰門的構造，再改以 400 倍放大倍率分別拍攝蟲體的前端和尾部部位的構造，其中前端部分包含排泄孔 (excretory pore)、半月體 (hemizonid)、中部食道球 (median bulb) 及食道腺體和腸道重疊的位置等，尾部部分則含蓋肛門的開口位置，最後再於放大 1000 倍率的油鏡頭下，拍攝唇部、口針 (stylet)、交接刺 (spicule)、背部食道腺體的開口 (orifice of dorsally esophageal gland) 及側尾腺孔 (phasmid) 等構造。前述方法所拍攝之幻燈片中，有關線蟲影像之各項器官構造的測量方法等如 Chen 等⁽⁴⁾之報告中所述。另外以掃描式電子顯微鏡 (SEM) 觀察線蟲唇部的唇盤和體表的側帶等微細構造，首先必須將保存於 2% 福馬林溶液中的根腐線蟲吸取至清水中漂洗 2-3 次，將附著在線蟲體表上之福馬林溶液清除後，才可將線蟲浸泡於液態氮中瞬間冷凍，再以低溫場放射掃描電子顯微鏡 (cryo-field emission scanning electron microscope, JSM-6330F, Jeol, Tokyo, Japan) 進行觀察⁽⁹⁾。

根腐線蟲 *P. coffeae* 之形態測量值統計分析和 rDNA 片段序列

本研究之 8 個 *P. coffeae* 種群間之各項形態測量值差異分析是以 SAS 統計分析軟體 GLM 程序 (1999, V 8.2) 進行變方分析。各根腐線蟲種群之 rDNA 片段是以 Vrain 等 (1992) ⁽³³⁾ 所設計之通用性引子對 S-ITS1(5'-TTGATTACGTCCTGCCCT TT-3') 和 p28S (5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAG G-3')，將 20-30 隻的根腐線蟲雌蟲所萃取的總量基因體 DNA (total genomic DNA)，以聚合酵素連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 所增幅得來，而該片段包含完整的內轉錄區間 ITS-1 和 ITS-2 (internal transcribed spacers, ITS-1, 2) 和 5.8S 基因，以及部分的 18S 和 28S 基因的序列。關於上述有關萃取線蟲的總量基因體 DNA、PCR 增幅 rDNA 片段、標的片段的選殖 (cloning) 和解序等之詳細方法皆依據 Chen 等 ⁽⁶⁾ 之報告。

根腐線蟲 *P. coffeae* 之 rDNA 片段序列分析

本研究的根腐線蟲 *P. coffeae*，其 rDNA 片段之代表性序列 (一致性序列, consensus sequence) 的產生方式如下：在 8 個 *P. coffeae* 種群中 (如表一)，除 Pcof4 外，從其餘 7 個種群中，共計選取 18 個選殖體 (clones) 進行解序，再以 Pretty program (SeqWeb 3.1.2, GCG)，將此 18 條 rDNA 片段原始序列進行同時多條序列比對 (multiple sequences alignment) 而得到其一致性序列，此序列再經人工檢視修正後為根腐線蟲 *P. coffeae* 之代表性序列 (1249 bp, Accession No. FJ827746)。另外上述 *P. coffeae* 之 7 個種群，共計 18 個原始序列和代表性序列間的 rDNA 片段序列相同度分析，其所採用的分析軟體為 BestFit program (SeqWeb 3.1.2, GCG)，至於 *P. coffeae* 和在台灣地區已發表的另外 3 種根腐線蟲 *P. zaeae*、*P. penetrans* 和 *P. loosi* 的 rDNA 片段代表性序列間的排列比對和相同度分析，其所使用的分析軟體為 Vector NTI Advance TM 9.0 (Invitrogen)。

另外 *P. coffeae* 的 rDNA 代表性序列中，5.8S 基因、ITS-1 及 ITS-2 的序列區間範圍，其推估方法為將此一代表性序列與 NCBI (National center for biotechnology information, U. S.) 的 GenBank 序列資料庫中所登錄之根腐線蟲 *P. zaeae* (967 bp, Accession No. FJ643590) ⁽¹⁰⁾、根腐線蟲 *P. penetrans* (916 bp, Accession No. FJ799117) ⁽¹¹⁾、根腐線蟲 *P. loosi* (1238 bp, Accession No. FJ799118) ⁽¹¹⁾、稻穿根線蟲 *Hirschmanniella oryzae* (1001 bp,

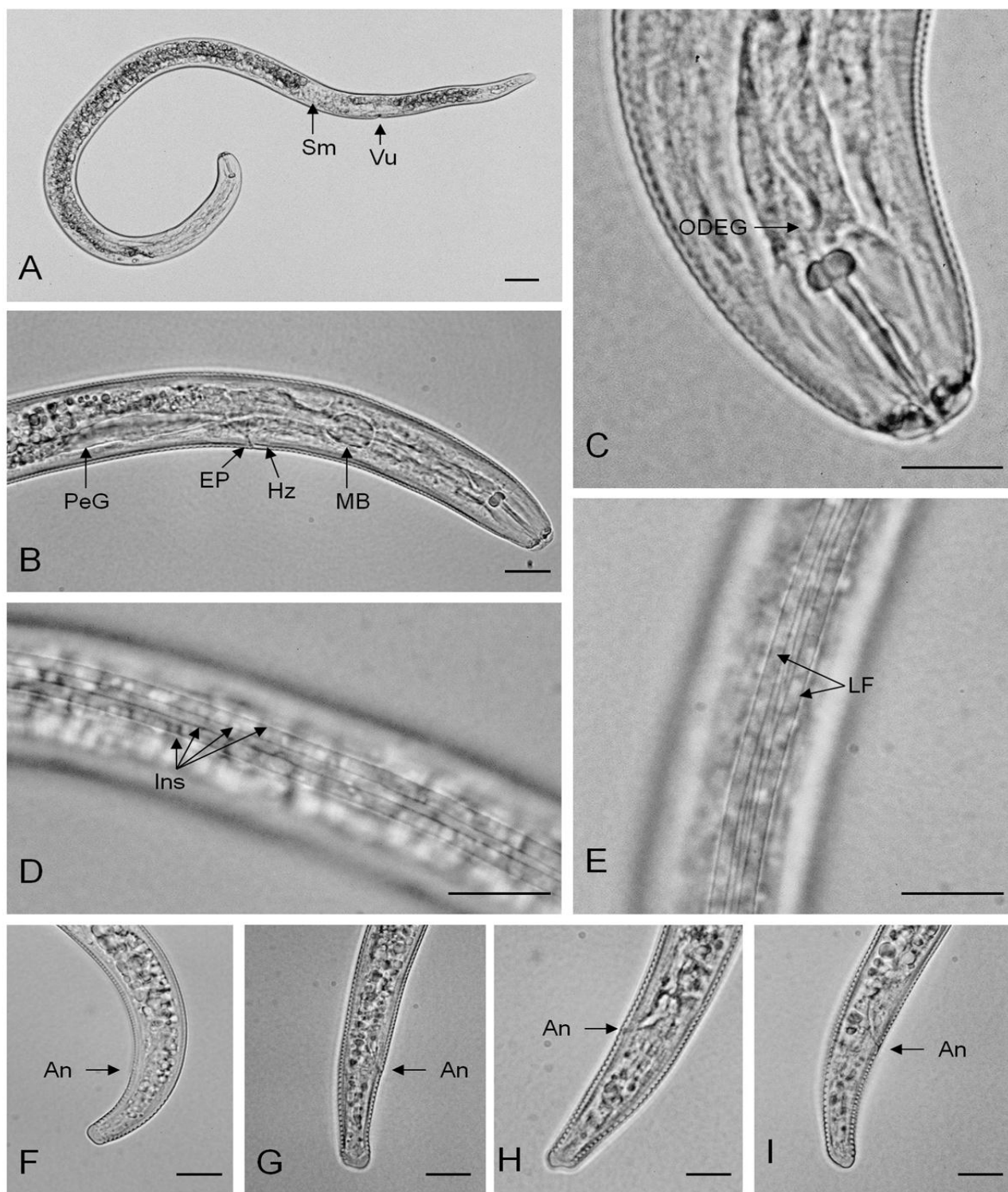
DQ309588) ⁽⁷⁾ 和 *H. mucronata* (962 bp, Accession No. DQ309589) ⁽⁷⁾ 等這 5 種線蟲的 rDNA 片段代表性序列，以 BestFit program (SeqWeb 3.1.2, GCG) 進行成雙比對後定之。

結果

根腐線蟲 *P. coffeae* 之形態特徵

P. coffeae 之雌蟲體型屬微胖型，其蟲體中段部位的平均寬度為 18.0 μm (14-28 μm)，但其中 Pcof5 雌蟲體型稍胖，其平均寬度為 24 μm (18-35 μm)；陰門 (Vu, vulva) 靠近於蟲體後端 (V, 79.3-81.4 %)，貯精囊 (Sm, spermatheca) 呈圓球形 (圖一、A)。唇部前端低平 (LipH, 1.9-2.0 μm)，唇部上具有 2 個體環 (LAs, lip annules)；唇盤 (LD, labial disc) 與唇板 (LP, labial plate) 融合，呈現為平滑面 (smooth face) (圖一、B 和 C；圖三、A, B 和 C)。口針強大，口針結球 (stylet knob) 明顯 (SKW, 3.5-4.0 μm)，大多呈半圓球形；背部食道腺體開口處 (ODEG, orifice of dorsal esophageal gland) 距離口針結球下端約 2.6-30 μm ；中部食道球 (MB, median bulb) 明顯 (MBW, 8.9-11.3 μm)，呈卵圓球形；後部食道腺體 (PeG, post-esophageal gland) 與腸道前端為腹部重疊 (ventral overlapping)，重疊區域明顯；排泄孔 (EP, excretory pore) 距離頭端約 69-79 μm ，其前面緊接半月體 (Hz, hemizonid)，(圖一、B 和 C；圖三、A)。蟲體兩側之側帶 (lateral field) 上具有 4 條明顯側帶溝 (Ins, incisures)，但部份側帶上之內側二條側線間會出現不連續之條紋 (圖一、D 和 E；圖三、D 和 E)。尾部頂端大多呈現截頭形 (truncate) 或斜切狀，少數為鈍狀圓突形 (bluntly pointed) (圖一、F 至 I；圖三、F, G 和 H)。側尾腺孔 (Ph, phasmids) 至尾端間的距離約為 15.5-18.8 μm (圖三、H)。

P. coffeae 的雄蟲普遍存在，其體形較雌蟲為短小細長，其中 Pcof 2, 4, 7 等 3 群之蟲體之平均寬度約為 14.0 μm (11-18 μm)，Pcof 5 則為 17 μm (15-20 μm) (圖二、A)。雄蟲之消化系統未退化，其器官之構造仍十分發達 (圖二、B)。雄蟲之尾部尖細，交接囊 (Bu, bursa) 向後延伸至尾端；副刺 (Gn, gubernaculum) 的長度約 3.7-5.1 μm (圖二、C)。



圖一、*Pratylenchus coffeae* 雌蟲之光學影像形態：A, 完整蟲體 (Sm, 受精囊；Vu, 陰門)；B, 蟲體前端部分 (EP, 排泄孔；Hz, 半月體；MB, 中部食道球；PeG, 後部食道腺體)；C, 頭端部位 (ODEG, 背部食道腺體之開口位置)；D 和 E, 蟲體中段部位 (Ins, 側線；LF, 側帶)；F 至 I, 尾部 (An, 肛門)。比例尺長度：A = 20 微米；B 至 I = 10 微米。

Fig. 1. Photomicrographs of *Pratylenchus coffeae* female: A, Whole body (Sm, spermatheca; Vu, vulva); B, Anterior region (EP, excretory pore; Hz, hemizonid; MB, median bulb; PeG, post-esophageal gland); C, Head region (ODEG, orifice of dorsal esophageal gland); D&E, Middle region (Ins, incisures; LF, lateral field); F-I, tail region (An, anus). Scale bars in A = 20 μ m; B-I = 10 μ m.

表一、台灣地區根腐線蟲 *Pratylenchus coffeae* 雌蟲之形態測量值與四個已記錄群之比較Table 1. Comparisons of the morphometrics of *Pratylenchus coffeae* female populations from Taiwan and the four reported populations

Character ¹	Locality (code)					
	Tsautuen	Shihkang	Madou	Chishan	Mingchien	Madou
	sugar orange (Pcof1)	tankan (Pcof2)	buntan (Pcof3)	lemon (Pcof4)	yam (Pcof5)	avocado (Pcof6)
n	15	16	16	16	18	17
L (mm)	0.57 ± 0.04 ^{2bcd} ³ (0.50-0.62)	0.59 ± 0.05ab (0.49-0.66)	0.58 ± 0.04bc (0.48-0.64)	0.57 ± 0.05bc (0.50-0.68)	0.62 ± 0.04a (0.55-0.71)	0.54 ± 0.05cde (0.41-0.63)
a	31.5 ± 2.4abc (28.0-35.9)	32.2 ± 2.9ab (26.3-37.1)	30.6 ± 2.4bc (25.5-35.0)	33.3 ± 2.0a (30.0-37.1)	26.3 ± 3.9d (19.1-35.0)	29.2 ± 2.7c (24.1-32.9)
b	-	-	-	-	-	-
b'	4.3 ± 0.3bc (3.7-4.8)	4.4 ± 0.5b (3.6-5.4)	4.1 ± 0.4bcd (3.6-4.9)	4.3 ± 0.3bc (3.8-4.9)	5.0 ± 0.4a (4.4-5.8)	3.9 ± 0.5d (3.3-4.8)
c	20.9 ± 2.2a (17.9-24.6)	20.3 ± 2.1a (16.9-23.9)	21.3 ± 2.4a (17.0-25.9)	21.0 ± 1.5a (18.1-23.3)	21.6 ± 1.6a (19.1-24.4)	20.7 ± 2.1a (17.0-24.8)
c'	2.5 ± 0.2a (2.2-2.9)	2.5 ± 0.3a (2.1-3.0)	2.4 ± 0.4ab (1.9-3.0)	2.5 ± 0.3a (1.9-3.1)	2.1 ± 0.2b (1.8-2.6)	2.2 ± 0.3ab (1.8-2.7)
V	79.3 ± 1.8b (76.2-81.8)	81.4 ± 1.2a (79.0-82.7)	80.3 ± 1.6ab (77.6-82.5)	81.2 ± 1.6a (79.5-84.9)	81.2 ± 0.7a (79.5-82.1)	80.6 ± 1.1a (79.2-82.3)
Stylet (μm)	16.2 ± 0.8b (15.3-17.5)	16.5 ± 0.7ab (15.3-18.5)	16.3 ± 0.5b (15.7-17.2)	16.5 ± 0.6ab (15.3-17.3)	16.9 ± 0.6a (15.7-17.9)	16.2 ± 0.4b (15.7-17.1)
m	49.2 ± 1.4b (46.7-51.6)	50.1 ± 2.3b (46.7-55.2)	50.2 ± 1.3b (47.9-52.4)	51.8 ± 1.5a (47.9-54.4)	50.6 ± 1.7ab (48.0-53.1)	50.5 ± 1.0ab (48.1-52.6)
ODEG (μm)	2.7 ± 0.4b (2.1-3.3)	2.9 ± 0.4ab (2.3-3.7)	3.0 ± 0.2a (2.7-3.3)	2.8 ± 0.3ab (2.5-3.5)	2.8 ± 0.5ab (2.0-3.9)	2.9 ± 0.3ab (2.4-3.3)
O	16.4 ± 2.3b (12.4-20.6)	17.8 ± 2.3ab (14.3-22.2)	18.5 ± 1.6a (16.2-21.0)	17.2 ± 2.0ab (14.5-21.0)	16.6 ± 3.1ab (12.5-23.2)	17.7 ± 1.6ab (15.3-20.5)
EP (μm)	78 ± 10a (63-92)	79 ± 7a (62-88)	75 ± 7ab (57-87)	69 ± 9b (52-78)	71 ± 11ab (57-86)	72 ± 8ab (55-86)
P	13.7 ± 1.4ab (11.1-16.1)	13.2 ± 1.4ab (10.2-15.7)	13.1 ± 1.6ab (9.8-15.7)	12.2 ± 1.9b (9.0-14.7)	11.4 ± 1.9c (8.8-14.2)	13.6 ± 1.8ab (8.7-15.6)
LipH (μm)	2.0 ± 0.2a (1.7-2.5)	2.0 ± 0.1a (1.9-2.1)	1.9 ± 0.2b (1.7-2.1)	1.9 ± 0.2b (1.6-2.1)	1.9 ± 0.2ab (1.7-2.1)	2.0 ± 0.1ab (1.7-2.1)
LipW (μm)	7.0 ± 0.4bc (6.4-7.9)	7.1 ± 0.3b (6.7-7.7)	6.9 ± 0.3bc (6.4-7.3)	6.7 ± 0.4c (6.0-7.3)	7.6 ± 0.3a (6.8-8.0)	6.8 ± 0.3bc (6.1-7.3)
SKW (μm)	3.7 ± 0.3bc (3.2-4.3)	3.6 ± 0.3bc (3.1-4.0)	3.8 ± 0.2ab (3.6-4.1)	3.8 ± 0.3abc (3.3-4.4)	4.0 ± 0.2a (3.7-4.4)	3.5 ± 0.2c (3.3-3.9)
MBW (μm)	8.9 ± 0.8c (7.5-10.5)	9.9 ± 0.6b (9.0-10.7)	10.1 ± 0.5b (9.3-10.8)	9.5 ± 0.7bc (8.1-10.7)	11.3 ± 0.8a (9.7-12.7)	9.7 ± 0.7b (8.3-11.0)
Tail (μm)	27 ± 2abc (24-31)	30 ± 3a (23-36)	27 ± 3abc (22-33)	27 ± 3abc (23-32)	29 ± 3ab (23-34)	26 ± 3bc (21-33)
ABW (μm)	11 ± 1b (10-13)	12 ± 1b (10-13)	12 ± 1b (10-15)	11 ± 1b (9-12)	14 ± 1a (12-16)	12 ± 1b (10-13)

表一、台灣地區根腐線蟲 *Pratylenchus coffeae* 雌蟲之形態測量值與四個已記錄群之比較 (續)Table 1. Comparisons of the morphometrics of *Pratylenchus coffeae* female populations from Taiwan and the four reported populations (continued)

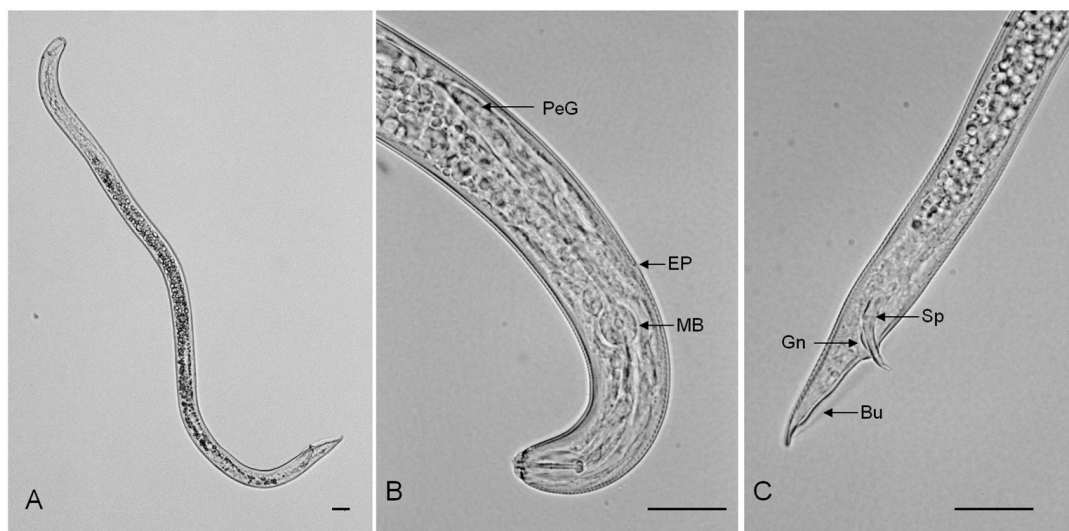
Character ¹	Locality and host (code)					
	Shihu grape (Pcof7)	Shihu grape (Pcof8)	Sher & Allen, 1953 ⁴	Roman & Hirschmann 1969 ⁵	Inserra, <i>et</i> <i>al.</i> , <i>coffae</i> , Java 2001 ⁶	Wu <i>et al.</i> , citrus 2002 ⁷
n	18	16	-	25	20	50
L (mm)	0.53 ± 0.05de (0.45-0.65)	0.52 ± 0.03e (0.47-0.58)	0.45-0.70	0.59 (0.52-0.72)	0.60 ± 0.05 (0.52-0.72)	0.60 ± 0.04 (0.53-0.71)
a	29.9 ± 3.7bc (20.4-35.7)	30.7 ± 2.3abc (26.1-34.1)	25-35	26.3 (20.1-33.7)	28.7 ± 3.1 (23.4-34.0)	25.4 ± 2.1 (20.2-30.5)
b	-	-	5-7	6.7 (5.2-7.5)	6.7 ± 0.4 (5.6-7.2)	6.8 ± 0.7 (5.5-7.9)
b'	4.1 ± 0.4bcd (3.4-5.1)	4.0 ± 0.3cd (3.4-4.5)	-	-	-	-
c	20.2 ± 2.3a (16.7-23.2)	20.5 ± 1.8a (17.4-23.9)	17-22	18.2 (14.9-20.8)	20.9 ± 2.8 (17.0-31.0)	20.4 ± 1.5 (17.0-24.2)
c'	2.4 ± 0.4ab (1.6-3.0)	2.4 ± 0.2ab (1.9-2.7)	-	-	-	-
V	81.1 ± 1.2a (79.2-83.7)	81.3 ± 1.1a (79.8-83.9)	76-83	78.6 (74-79)	80.5 ± 1.5 (76.0-82.5)	79.6 ± 1.6 (75.4-82.7)
Stylet (μ m)	16.6 ± 0.5ab (15.7-17.5)	16.1 ± 0.5b (14.7-17.0)	15-18	15.47 (14.4-16.8)	16.9 ± 0.2 (16.5-17.0)	17.4 ± 0.2 (17.0-17.8)
m	51.7 ± 1.7a (48.4-54.9)	50.6 ± 1.8ab (46.9-53.3)	-	-	-	-
ODEG (μ m)	2.7 ± 0.4ab (2.0-3.5)	2.6 ± 0.4b (2.0-3.3)	-	3.0 (2.4-3.6)	2.8 ± 0.5 (2.5-4.0)	3.3 ± 0.5 (2.5-4.3)
O	16.5 ± 2.2ab (12.5-21.0)	16.3 ± 2.2b (12.3-20.2)	-	-	-	-
EP (μ m)	76 ± 9ab (57-88)	73 ± 6ab (57-83)	-	87.5 (81-104)	84.2 ± 6.0 (76-100.5)	87.5 ± 5.2 (77.5-98.8)
P	14.2 ± 1.7a (10.5-16.3)	14.1 ± 1.1a (11.9-16.0)	-	-	-	-
LipH (μ m)	2.0 ± 0.1ab (1.9-2.1)	1.9 ± 0.1ab (1.7-2.0)	-	2.3 (1.8-2.4)	-	-
LipW (μ m)	7.2 ± 0.4b (6.7-8.0)	7.0 ± 0.3bc (6.7-7.5)	-	7.3 (6.6-7.8)	-	-
SKW (μ m)	3.6 ± 0.3bc (2.8-4.3)	3.6 ± 0.2bc (3.1-4.0)	-	3.8 (3.0-4.8)	4.2 ± 0.2 (4.0-4.5)	3.9 ± 0.4 (3.3-4.5)
MBW (μ m)	10.2 ± 0.7b (9.3-11.5)	9.8 ± 0.7b (9.0-11.3)	-	-	-	-
Tail (μ m)	27 ± 2bc (23-31)	25 ± 2c (22-30)	-	32.5 (27.0-38.4)	29.0 ± 3.3 (21.5-36.0)	29.7 ± 2.5 (25.0-36.3)
ABW (μ m)	11 ± 1b (10-14)	11 ± 1b (10-12)	-	-	13.2 ± 1.1 (11.5-15.0)	-

¹ n = no. of nematodes; L = body length; a = body length divided by the maximum width; b=body length divided by oesophageal length; b'= body length divided by the length from head end to posterior end of oesophageal gland; c=body length divided by tail length; c'=tail length divided by body width at anus; V=ratio between distance from vulva to anterior end of body and total body length in %; m= ratio between the length of prohabdion and stylet in % ; ODEG = distance from base of stylet to the orifice of dorsal oesophageal gland; o=ratio between the length of ODEG and 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 %; LipH=lip height; LipW=lip width; SKW= stylet knob width; MBW= median bulb width; ABW=Anal body width.

² Measurements in the form: mean \pm standard deviation (population range), “-“ = no data.

³ Data in each row with the same letter were not significantly different at 1% level by LSMEANS/TDIFF.

⁴ Sher & Allen, 1953 ⁽²⁸⁾; ⁵ Roman & Hirschmann, 1969 ⁽²⁶⁾; ⁶ Inserra, *et al.*, 2001 ⁽²²⁾; ⁷ Wu, *et al.*, 2002 ⁽³⁵⁾



圖二、*Pratylenchus coffeae* 雄蟲之光學影像形態：A, 完整蟲體；B, 頭端部分 (EP, 排泄孔；MB, 中部食道球；PeB, 後食道腺體)；C, 尾端部分 (Bu, 交接囊；Gn, 副刺, Sp, 交接刺)。比例尺長度：A 至 C = 20 微米。

Fig. 2. Photomicrographs of *Pratylenchus coffeae* male: A, Whole body; B, Anterior region (EP, excretory pore; MB, median bulb, PeG, post-esophageal gland); Tail region (Bu, bursa; Gn, gubernaculum; Sp, spicule). Scale bars in A-C = 20 μ m.

根腐線蟲 *P. coffeae* 之形態測量值

由台灣地區所分離鑑定的 8 個 *P. coffeae* 雌蟲種群的主要形態測量值 (表一), 除 Pcof5 種群的 a 項、b' 項、P 項、口唇的寬度 (LipW 項)、中部食道球的寬度 (MBW 項) 和肛門位置的體寬 (ABW 項) 等 6 項測量值的平均值和其餘 7 種群間有明顯較大的差異外 ($P < 0.01$), 8 個種群間的其他各項平均值皆相當接近。至於 4 個種群之雄蟲形態測量值 (表二), 其中除 Pcof7 的蟲體長度 (L 項)、Pcof4 的交接刺長度 (spicule 項) 和 Pcof5 的中部食道球寬度 (MBW 項) 的平均值和其他 3 群間有較大差異外, 其餘各項測量值的平均值在 4 種群間的差異不大, 且其中測量值的 a 項、c 項、m 項、排泄孔至頭端的距離 (EP 項)、頭唇部的高度和寬度 (LipH 和 LipW 項) 及肛門位置的體寬 (ABW 項) 等 7

項的平均值在 4 個種群間皆無顯著差異 ($P < 0.01$)。

根腐線蟲 *P. coffeae* 之 rDNA 片段序列

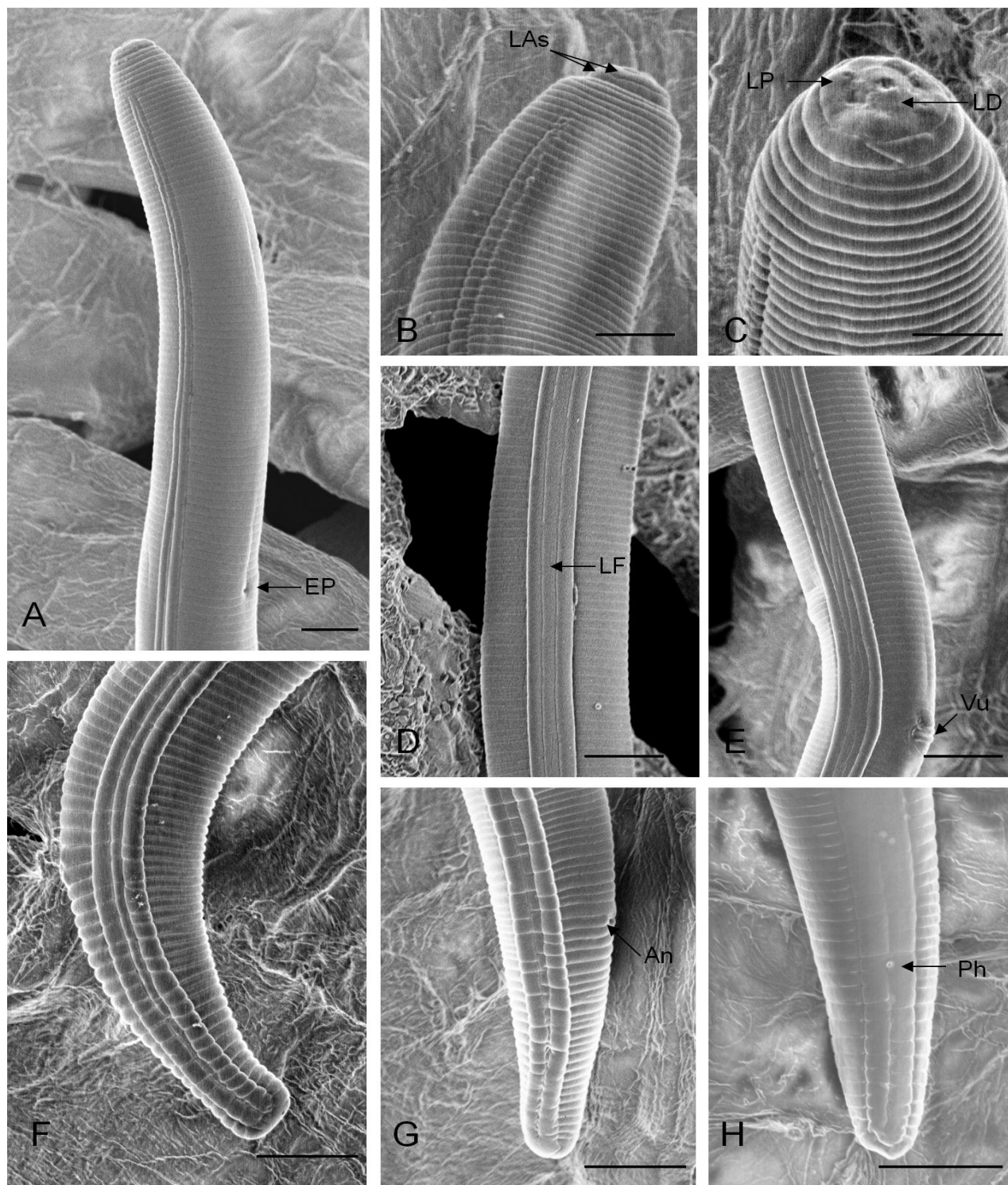
由 7 個 *P. coffeae* 的供試種群中, 總計獲得 18 個選殖體的原始序列 (1216-1265 bp), 其與代表性序列 (1249 bp) 間的相同度為 97.4-99.8%, 其平均值為 99.2% (未顯示資料), 且此一代表性序列和國內已發表 3 種根腐線蟲 *P. zae*、*P. penetrans* 及 *P. loosi* 之代表性序列 (依序為 Accession No. FJ643590; Accession No. FJ799117; Accession No. FJ799118) 間進行排列比較, 其序列相同度依序分別為 55%、56% 及 72% (圖四)。另 *P. coffeae* 代表性序列中的 ITS-1、ITS-2 及 5.8S 的序列大小, 依序分別為 484 bp、311 bp 及 157 bp。

表二、台灣地區根腐線蟲 *Pratylenchus coffeae* 雄蟲之形態測量值與三個已記錄群之比較

Table 2. Comparisons of the morphometrics of *Pratylenchus coffeae* male populations from Taiwan and the three reported populations

Character ¹	Locality and host (code)						
	Shihkang tankan (Pcof2)	Chishan lemon (Pcof4)	Mingchien yam (Pcof5)	Shihu grape (Pcof7)	Sher & Allen, 1953 ⁴	Inserra, <i>et al.</i> , <i>coffeae</i> , Java 2001 ⁵	Wu <i>et al.</i> , 2002 ⁶
n	12	13	12	15	-	20	50
L (mm)	0.52 ± 0.03 ² a ³ (0.48-0.58)	0.54 ± 0.04a (0.46-0.61)	0.53 ± 0.03a (0.49-0.58)	0.47 ± 0.04b (0.42-0.53)	0.45-0.70	0.59 ± 0.03 (0.56-0.65)	0.52 ± 0.04 (0.46-0.59)
a	35.1 ± 3.0a (31.1-42.3)	37.9 ± 2.3a (35.3-43.6)	31.0 ± 2.8a (26.5-36.7)	36.2 ± 3.4a (32.1-44.2)	26-40	30.8 ± 1.6 (28.7-33.9)	32.0 ± 2.1 (28.7-36.5)
b	-	-	-	-	6-7	6.7 ± 0.3 (6.0-7.3)	6.6 ± 0.4 (5.9-7.4)
b'	4.5 ± 0.3a (4.0-4.8)	4.2 ± 0.4a (3.5-5.0)	4.6 ± 0.3a (4.2-5.0)	4.1 ± 0.4a (3.2-4.6)	-	-	-
c	20.5 ± 1.2a (19.2-22.9)	21.4 ± 1.9a (17.8-24.0)	20.3 ± 2.0a (18.2-25.2)	19.8 ± 1.6a (16.5-22.9)	17-24	21.8 ± 1.6 (19.4-25.4)	21.4 ± 1.8 (19.6-25.7)
c'	2.7 ± 0.2a (2.4-3.0)	2.7 ± 0.3a (2.3-3.5)	2.7 ± 0.2ab (2.3-2.8)	2.4 ± 0.3b (2.1-2.9)	-	-	-
Spicule (μm)	17.8 ± 1.1b (16.7-20.0)	20.3 ± 1.1a (18.0-21.7)	18.4 ± 0.9b (17.3-19.7)	18.0 ± 1.5b (15.0-20.0)	-	17.5 ± 0.6 (16.0-18.0)	15.2 ± 1.1 (12.5-16.3)
Stylet (μm)	14.9 ± 0.8ab (13.5-16.4)	15.7 ± 0.8a (14.3-16.7)	15.2 ± 0.6ab (14.4-16.1)	14.6 ± 0.8b (13.5-16.5)	15-17	15.0 ± 0.4 (14.5-15.5)	16.4 ± 0.4 (16.3-17.5)
m	51.8 ± 1.6a (49.0-54.6)	52.6 ± 1.2a (51.0-54.8)	50.9 ± 1.5a (48.4-52.6)	51.8 ± 1.8a (49.0-55.0)	-	-	-
ODEG (μm)	2.8 ± 0.4ab (2.1-3.2)	2.9 ± 0.3ab (2.4-3.2)	2.5 ± 0.4b (2.0-3.0)	3.0 ± 0.4a (2.4-3.3)	-	3.6 ± 0.3 (3.0-4.0)	-
O	18.8 ± 2.4ab (14.9-21.3)	18.3 ± 2.1ab (15.0-22.4)	16.8 ± 2.1b (13.9-19.6)	20.8 ± 2.1a (16.8-22.9)	-	-	-
EP (μm)	77 ± 5a (72-85)	75 ± 7a (62-88)	75 ± 6a (64-85)	74 ± 6a (64-83)	-	86.4 ± 4.7 (79-94)	-
P	14.6 ± 0.9ab (13.3-16.3)	13.8 ± 1.8b (11.2-18.3)	14.1 ± 0.9b (13.0-15.5)	15.6 ± 0.5a (14.4-16.7)	-	-	-
LipH (μm)	1.9 ± 0.1a (1.9-2.0)	1.8 ± 0.2a (1.4-2.0)	1.7 ± 0.1a (1.6-1.9)	2.0 ± 0.1a (1.7-2.1)	-	-	-
LipW (μm)	6.5 ± 0.5a (6.0-7.3)	6.1 ± 0.5a (5.2-6.8)	6.1 ± 0.4a (5.7-6.8)	6.0 ± 0.3a (5.3-6.5)	-	-	-
SKW (μm)	2.8 ± 0.3ab (2.4-3.3)	3.1 ± 0.3a (2.8-3.4)	3.0 ± 0.2ab (2.8-3.3)	2.7 ± 0.3b (2.4-3.1)	-	3.4 ± 0.2 (3.0-3.8)	-
MBW (μm)	7.5 ± 0.4b (7.1-8.0)	7.4 ± 0.4b (6.3-8.0)	8.6 ± 0.8a (7.9-10.0)	7.8 ± 0.3b (7.3-8.1)	-	-	-
Tail (μm)	26 ± 1a (24-28)	26 ± 2ab (23-29)	26 ± 2a (23-28)	24 ± 2b (21-26)	-	27.1 ± 1.9 (24.5-31.0)	24.4 ± 1.3 (21.3-26.3)
ABW (μm)	10 ± 1a (9-10)	9 ± 1a (8-11)	10 ± 1a (9-11)	10 ± 1a (9-11)	-	-	-

^{1,2,3,4,5,6} See table 1.



圖三、*Pratylenchus coffeae* 雌蟲之 SEM 影像形態：A，蟲體前端部分 (EP, 排泄孔)；B 和 C，頭端部分 (LAs, 唇區體環；LP, 唇板；LD, 唇盤)；D 和 E，中段部分 (LF, 側帶)；F 至 H，尾端部分 (An, 肛門；Ph, 側尾腺孔)。比例尺長度：A 和 D 至 H = 10 微米；B 和 C = 5 微米。

Fig. 3. SEM photomicrographs of *Pratylenchus coffeae* female: A, Anterior region (EP, excretory pore); B&C, Head region (LAs, lip annules, LP, labial plate, LD, labial disc); D&E, Middle region (LF, lateral field); F-H, Tail region (An, anus; Ph, phasmid). Scale bars in A, D-H = 10 μ m; B&C = 5 μ m.

討 論

在本研究中所鑑定的 8 個 *P. coffeae* 雌蟲種群，其中只有從名間地區的山藥塊莖病組織上所分離的種群 (Pcof5)，其 6 項的形態測量平均值和其餘 7 個種群間有顯著差異，但是該 6 項的測量值範圍間皆有明顯的重疊情形。另外在 *P. coffeae* 的雄蟲部分，其中只有 Pcof 7 的 L 項值、Pcof4 的 spicule 項值及 Pcof 5 的 MBW 項值，分別和其他 3 個種群間有顯著差異，但是同樣各項測量值範圍間有明顯重疊部分，而且包括 a、c、m、EP、LipH、LipW 及 ABW 等共計 7 項的測量平均值在 4 個種群間皆無顯著差異。另外 Pcof5 的形態測量值和其他種群間有較大差異，但其 3 個 rDNA 片段原始序列 (1250, 1251, 1252 bp) 與 *P. coffeae* 的代表性序列 (1249 bp) 之大小相近，且序列間之相同度為 99.2-99.8%。由上述雌蟲和雄蟲的形態測量值，以及 rDNA 片段序列相同度的輔助比對分析，確定本研究目前從台灣地區的香橙、桶柑、文旦、檸檬、酪梨和葡萄根圈土壤，以及山藥塊莖上等所分離到的 8 個根腐線蟲供試種群皆屬於同一種根腐線蟲-亦即 *P. coffeae*。

本研究所鑑定的 *P. coffeae*，其主要的外觀形態特徵是頭唇部低平，唇上只具有 2 個體環、唇端上之唇盤與唇板結合成平滑面，以及尾部頂端大多為截頭形或斜截頭形，少數為圓錐形，而且雄蟲個體普遍存在，這些特徵都符合對 *P. coffeae* 的描述^(2,3,15,16,28,29)。至於在形態測量值方面，本研究之雌蟲和雄蟲的形態測量值的範圍與 Sher & Allen (1953)⁽²⁸⁾ 之報告中所列測量項目皆相當接近。其次和 Roman & Hirschmann (1969)⁽²⁶⁾ 之雌蟲鑑定資料比對，大多數測量項目的平均值差異不大，且其範圍值間都有明顯的重疊部分，只有排泄孔至頭端的距離 (EP 項) 有較大的差距 (69-79 μm 和 87.5 μm)。另外和 Inserra 等 (2001)⁽²²⁾ 之報告比較，大多數的測量平均值皆相當吻合，其中雌蟲間只有 EP 項的平均值出現較明顯差異 (69-79 μm 和 84.2 μm)，其次為口針結球的寬度 (SKW 項，3.5-4.0 μm 和 4.2 μm)；至於 4 個雄蟲種群部分，除前述二項外，背部食道腺的開口位置和頭端間的距離 (ODEG 項) 有較大差距 (2.5-3.0 μm 和 3.6 μm)。至於和 Wu 等 (2002)⁽³⁵⁾ 於台灣地區的柑橘上所採集鑑定的資料比對，本研究之雌蟲 a 項的平均值顯然較大 (26.3-33.3 和 25.4)、口針較短 (stylet 項，16.1-16.9 μm 和 17.4 μm)、ODEG 項的平均值較小

(2.6-3.0 μm 和 3.3 μm)，以及 EP 項的平均值顯然較小 (73-79 μm 和 87.5 μm)，但是其測量值的範圍都有重疊的部分；另外雄蟲部分，二者間差異較大項目為交接刺的長度 (Spicule 項，17.8-20.3 μm 和 15.2 μm) 和口針的長度 (14.6-15.7 μm 和 16.4 μm)，但同樣其測量值的範圍亦有明顯的重疊情形。

根據早期 Wu 等⁽³⁵⁾ 在台灣地區根腐線蟲種類分佈調查報告，根腐線蟲 *P. coffeae* 存在於柑橘、香蕉、竹、番石榴、葡萄、芒果、草莓、茶、山藥及鳳梨等共 17 種作物的根圈土壤中。在本研究的調查鑑定過程中，除了於表一中所列的 7 類作物上發現根腐線蟲 *P. coffeae* 外，另於南投縣草屯和國姓地區的北蕉園和花蓮縣新城地區的北蕉和芭蕉園，以及新北市坪林、彰化縣田中、雲林縣林內、台南市白河及花蓮縣壽豐等地區的竹園中共計分離到 8 個根腐線蟲種群，該 8 個根腐線蟲雌蟲種群的頭唇部都具有 2 個體環和尾部尾端為截頭形或斜截頭形等 *P. coffeae* 的主要外觀形態特徵，且各項形態測量值亦極為相近，但是在 rDNA 片段序列的分析上，上述從香蕉和竹園所分離到的 8 個根腐線蟲種群的序列相同度頗高，但是和 *P. coffeae* 的相同度偏低 (93.7-95.4%) (作者未發表資料)，而且由 rDNA 片段上的內轉錄區間 ITS-1 和 ITS-2 上所設計的 *P. coffeae* 專一性引子對對上述竹和香蕉園中的 8 個根腐線蟲種群沒有反應 (作者未發表資料)。另外作者的初步接種試驗結果顯示，從草屯一處竹園 (麻竹) 的根系上所分離到的根腐線蟲，分別接種於溫室盆栽的香蕉 (北蕉) 和柑桔 (廣東檸檬和酸橘) 植株上，經 4 個月後，該線蟲只在香蕉上大量繁殖，於柑桔上則無法再分離到任何根腐線蟲，因此目前在台灣地區的香蕉和竹上的根腐線蟲有可能為 *P. coffeae* 的生物型 (biotype) 或病原型 (pathotype)，但此一推論仍有待形態學上的詳細研究。另依據早期 Huang 等 (1972)⁽¹⁹⁾ 針對全台的糧食、雜糧、特用、蔬菜、果樹及花卉等作物中的植物寄生性線蟲調查，總共於 87 個植物種類的根圈土壤中分離到根腐線蟲 (*Pratylenchus* spp.)，此一早期的普查結果顯示根腐線蟲在台灣地區的分佈相當普遍，在未來有必要持續進行全面的採集鑑定研究，以明瞭本國根腐線蟲種類的數量及其寄主作物範圍。截至目前，在台灣地區已具有 *P. zaeae*、*P. penetrans*、*P. loosi* 和 *P. coffeae* 等 4 種根腐線蟲的形態特徵、形態測量值及部分寄主作物等鑑定參考資料，且此 4 種根腐線蟲的種專一性引子對亦已完成測

試 (作者未發表資料), 若能結合少數或單隻線蟲的基因體快速萃取方法, 在未來將能更正確、快速及簡單地進行本國根腐線蟲種類調查鑑定研究。

謝 辭

本研究承行政院農業委員會動植物防疫檢疫局計畫部分經費補助; 農委會農業藥物毒物試驗所蘇秋竹博士和李祈益先生提供掃描式電子顯微鏡之相關儀器和技術支援; 本所作物組試驗統計研究室呂椿棠博士協助數據統計分析, 特致謝忱。

引用文獻 (LITERATURE CITED)

1. Al-Banna, L., Ploeg, A. T., Williamson, V. M., and Kaloshian, I. 2004. Discrimination of six *Pratylenchus* species using PCR and species-specific primers. *J. Nematol.* 36: 142-146.
2. Café Filho, A.C., and Huang, C. S. 1989. Description of *Pratylenchus pseudofallax* n. sp. with a key to species of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae). *Revue de Nématol.* 12: 7-15
3. Castillo, P., and Vovlas, N. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. *Nematology Monographs and Perspectives*, Vol. 6. Brill, Leiden-Boston. 529 pp.
4. 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)
5. 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.
6. Chen, D. Y., Chen, R. S., Yen, J. H., Tsay, T. T., and Ni, H. F. 2006. Species of spiral nematode and lance nematode (Nematoda: Hoplolaiminae) identified in Taiwan and Kinmen. *Plant Pathol. Bull.* 15: 25-38. (in Chinese with English abstract)
7. Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., Chen, R. S., and Tsay, T. T. 2006. Distribution of rice root nematode *Hirschmanniella oryzae* and a new recorded *H. mucronata* (Nematoda: Pratylenchidae) in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 15: 197-210. (in Chinese with English abstract)
8. Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., and Tsay, T. T. 2006. Identification of stunt nematode *Tylenchorhynchus annulatus* and a new recorded *Tylenchorhynchus leviterminalis* (Nematoda: Belonolaimidae) in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 15: 251-262. (in Chinese with English abstract)
9. Chen, D. Y., Ni, H. F., and Tsay, T. T. 2007. Identification of a new recorded stunt nematode *Tylenchorhynchus zaeae* (Nematoda: Belonolaimidae) in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 16: 79-86. (in Chinese with English abstract)
10. Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., and Tsay, T. T. 2009. Identification of a new recorded root-lesion nematode *Pratylenchus zaeae* (Nematoda: Tylenchoidea, Pratylenchidae) from corn plantations in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 18: 111-118. (in Chinese with English abstract)
11. Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., Wu, W. S., and Tsay, T. T. 2009. Identification of root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans* and *P. loosi* (Nematoda: Pratylenchidae) from strawberry and tea plantations in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 18: 247-262.
12. Chen, D. Y., Ni, H. F., Tsay, T. T., and Chen, R. S. 2011. Differentiation of *Hemicriconemoides mangiferae* and *H. litchi* (Nematoda: Criconematina) based on morphometrics and nuclear ribosomal DNA sequences. *Nematology* 13: 165-175.
13. Corbett, D. C. M., and Clark, S. A. 1983. Surface features in the taxonomy of *Pratylenchus* species. *Revue de Nématol.* 6: 85-89.
14. Duncan, L. W., Inserra, R. N., Thomas, W. K., Dunn, D., Mustika, I., Frisse, L. M., Mendes, M. L., Morris, K., and Kaplan, D. T. 1999. Molecular and morphological analysis of isolates of *Pratylenchus coffeae* and closely

- related species. *Nematropica* 29: 61-80.
15. Frederick, J. J., and Tarjan, A. C. 1989. A compendium of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nemata: Pratylenchidae). *Revue de Nématol.* 12: 243-256.
 16. Handoo, Z. A., and Golden, A. M. 1989. A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (lesion nematodes). *J. Nematol.* 21: 202-218.
 17. Handoo, Z. A., Carta, L. K., and Skantar, A. M. 2001. Morphological and molecular characterisation of *Pratylenchus arlingtoni* n. sp., *P. convallariae* and *P. fallax* (Nematoda: Pratylenchidae). *Nematology* 3: 607-618.
 18. 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)
 19. 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)
 20. Huang, C. S., and Chiang, Y. C. 1976. *Pratylenchus coffeae* found in Taiwan citrus orchard. *Plant Prot. Bull.* 18: 75-78.
 21. Hung, Y. P., Hung, W. L., and Chen, C. S. 1966. Nematodes parasitic to banana and their distribution in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 8: 221-226. (in Chinese)
 22. Inserra, R. N., Duncan, L. W., Troccoli, A., Dunn, D., Santos, J. M. D., Kaplan, D., and Vovlas, N. 2001. *Pratylenchus jaehni* sp. n. from citrus in Brazil and its relationship with *P. coffeae* and *P. loosi* (Nematoda: Pratylenchidae). *Nematology* 3: 653-665.
 23. Loof, P. A. A. 1991. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. Pages 363-421 *in: Manual of Agricultural Nematology.* W. R. Nickle, ed. M. Dekker, New York, U.S.A.
 24. O'Bannon, J. H., and Tomerlin, A. T. 1973. Citrus tree decline caused by *Pratylenchus coffeae*. *J. Nematol.* 5: 31-316.
 25. Powers, T. O., Todd, T. C., Burnell, A. M., Murray, P. C. B., Fleming, C. C., Szalanski, A. L., Adams, B. A. and Harris, T. S. 1997. The rDNA internal transcribed spacer region as a taxonomic marker for nematodes. *J. Nematol.* 29: 441-450.
 26. Roman, J., and Hirschmann, H. 1969. Morphology and morphometrics of six species of *Pratylenchus*. *J. Nematol.* 1: 363-386.
 27. Sasser, J. N., and Freckman, D. W. 1987. A world perspective on Nematology: the role of the society. Pages 7-14. *in: Vistas on Nematology.* J. A. Veech and D. W. Dickson, eds. Society of Nematologists Inc. U. S. A.
 28. Sher, S. A., and Allen, M. W. 1953. Revision of the genus *Pratylenchus* (Nematoda: Tylenchida). *Univ. Calif. Publ. Zool.* 57: 441-469.
 29. Siddiqi, M. R. 1972. *Pratylenchus coffeae*. C. I. H. Descriptions of plant-parasitic nematodes. Set 1, No. 6. Commonwealth Institute of Helminthology, St. Albans, England.
 30. Siddiqi, M. R. 2000. Tylenchida Parasites of Plants and Insects. 2nd edition. Wallingford, UK, CABI Publishing, 833 pp.
 31. Toung, M. C. 1962. A preliminary survey of some parasitic nematodes in relation to citrus in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 4: 59-63.
 32. Toung, M. C. 1963. Some parasitic nematodes associated with citrus in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 5: 17-22. (in Chinese with English abstract)
 33. Vrain, T. C., Wakarchuk, D. A., Levesque, C. A., and Hamilton, R. I. 1992. Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundam. Appl. Nematol.* 15:563-573.
 34. Wang, L. C. 1970. A study on soil nematodes of tea plantation in Taiwan. *Taiwan Agriculture* 6: 126-151. (in Chinese with English abstract)
 35. Wu, H. Y., Tsay, T. T., and Lin, Y. Y. 2002. Identification and biological study of *Pratylenchus* spp. isolated from the crops in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 11: 123-136. (in Chinese with English abstract)

ABSTRACT

Chen, D. Y.¹, Ni, H. F.², Tsay, T. T.³, and Yen, J. H.^{4,5} 2011. Identification of root-lesion nematode *Pratylenchus coffeae* (Nematoda: Pratylenchidae) occurred in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 20: 26-38. (¹ Plant Pathology Division, Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan; ² Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI, Taiwan; ³ Department of Plant Pathology, NCHU, Taichung, Taiwan; ⁴ Agricultural Extension Center, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; ⁵ Corresponding author, E-mail: jhyen@nchu.edu.tw, Fax: +886-4-22860267)

Eight populations of root-lesion nematode were isolated from the roots of sweet orange (*Citrus sinensis*), tankan (*C. tankan*), buntan (*C. grandis* f. *buntan*), lemon (*C. limon*), avocado (*Persea americana*), grape (*Vitis vinifera*) and the yam tubers using modified Baermann funnel method in Taiwan during October 2007 to March 2011. Morphological features observed via optical microscopy and SEM showed that the 8 nematode populations have low and flat lip region, with two annules; the labial disc and labial plate of the lip region are integrated into a smooth face and most of end-tail shapes are truncate, few are bluntly pointed. Based on the morphology, morphometrics and ribosomal DNA fragment sequences, including full 5.8S gene, ITS-1, ITS-2 and partial 18S and 28S gene, we have identified the 8 populations of root-lesion nematode as *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941. The length of representative rDNA fragment sequence of *P. coffeae* was 1249 bp, in which the lengths of ITS-1, ITS-2 and 5.8S gene were 484 bp, 311 bp and 157 bp, respectively.

Keywords: identification, *Pratylenchus coffeae*, ribosomal DNA, root-lesion nematode