

台灣地區草莓和茶園根腐線蟲 *Pratylenchus penetrans* 和 *P. loosi* (Nematoda: Pratylenchidae) 之鑑定

陳殿義^{1,6} 倪蕙芳² 顏志恒³ 吳文希⁴ 蔡東纂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 國立中興大學農業推廣中心

⁴ 台北市 中國文化大學 園藝暨生物技術學系

⁵ 台中市 國立中興大學植物病理學系

⁶ 聯絡作者，電子郵件：Dychen@tari.gov.tw，傳真：+886-4-2330-2803

接受日期：中華民國 99 年 3 月 31 日

摘要

陳殿義、倪蕙芳、顏志恒、吳文希、蔡東纂 2009. 台灣地區草莓和茶園根腐線蟲 *Pratylenchus penetrans* 和 *P. loosi* (Nematoda: Pratylenchidae) 之鑑定. 植病會刊 18: 247-262

自 2007 年 10 月起，以改良式柏門氏漏斗分離法，從台灣的草莓和茶園主要產區中，總計採集到 9 群根腐線蟲 (*Pratylenchus* spp.)，其中由草莓上所分離的 5 個種群皆鑑定為 *P. penetrans* (Cobb, 1917) Chitwood & Oteifa, 1952，其餘來自茶樹的 4 個種群皆鑑定為 *P. loosi* Loof, 1960。每一根腐線蟲種群之主要鑑定依據為光學顯微鏡和 SEM 的形態特徵觀察，以及形態測量值 (morphometrics) 的統計分析，並輔以包含完整 5.8S 基因和內轉錄區間 ITS-1 和 ITS-2，以及部分 18S 和 28S 基因序列的核糖體 DNA (ribosomal DNA, rDNA) 片段序列的相似度比對分析。本研究已將 *P. penetrans* 和 *P. loosi* 的 rDNA 片段代表性序列登錄於 GenBank 資料庫中，其序列大小分別為 916 bp 和 1238 bp，而二者的序列相同度為 80.9 %。

關鍵詞：根腐線蟲、鑑定、核糖體 DNA、*Pratylenchus penetrans*、*Pratylenchus loosi*

緒言

根腐線蟲 (root-lesion nematode, *Pratylenchus* Filipjev, 1936) 為廣泛存在於全球各地主要作物的病原線蟲種類之一，其感染為害方式為蟲體侵入根部皮層 (cortex) 組織內移行取食及繁殖，根系表面因此產生局部褐化壞疽病斑，進而造成植株矮化或葉片黃化等病徵^(3, 30)，其危害作物之經濟重要性僅次於根瘤線蟲 (root-knot nematode, *Meloidogyne* spp.)⁽³⁵⁾。

截至目前，台灣地區已記載之根腐線蟲種類為 *P. brachyurus*⁽²⁶⁾、*P. coffeae*^(25, 44)、*P. loosi*^(43, 44)、*P. penetrans*^(26, 44)、*P. pratensis*^(23, 39, 40) 及 *P. zaei*⁽¹¹⁾ 等共計 6 種，其中 *P. pratensis* 和 *P. brachyurus* 為早期 Hu 和 Chu

(1964)⁽²³⁾、Toung (1962, 1963)^(39, 40) 及 Hung 等 (1966)⁽²⁶⁾ 於製糖甘蔗、柑橘和香蕉上所發現記錄，但 Wu 等 (2002)⁽⁴⁴⁾ 調查台灣地區根腐線蟲的種類和分佈，在不同地區的竹類、柑橘、香蕉、葡萄、番石榴、草莓及茶等共 19 種植物的根圈土中並未分離到上述該二種根腐線蟲，且將柑橘、草莓及茶等三種作物的罹病根組織上所分離得到的根腐線蟲，依據頭唇部之體環數目及尾端之形態特徵，蟲體表面構造之掃描式電子顯微鏡 (scanning electron microscope, SEM) 觀察，以及蟲體和口針之長度等測量值，分別鑑定為 *P. coffeae*、*P. penetrans* 和 *P. loosi*，至於 *P. zaei* 則為近年 Chen 等 (2009)⁽¹¹⁾ 於嘉義縣和雲林縣所栽植之食用玉米田上首次記錄。

根腐線蟲屬 *Pratylenchus* spp. 的分類地位為 Secernentea von Linstow, 1905 綱 (class) ; Tylenchida Thorne, 1949 目 (order) ; Hoplolaimina Chizhov & Berezina, 1988 亞目 (suborder) ; Hoplolaimoidea Filipjev, 1934 (Paramonov, 1967) 總科 (superfamily) ; Pratylenchidae Thorne, 1949 (Siddiqi, 1963) 科 (family)⁽³⁷⁾。*Pratylenchus* 屬的形態特徵相當明顯，主要為頭唇部低平 (flat)，口針 (stylet) 較粗大且其基部結球 (basal knot) 明顯，食道腺體與腸道 (intestine) 交接處為呈現腹面重疊方式，陰門位於蟲體長度的 70-80 % 位置^(3, 37)，上述特徵易於辨識，但是有關種 (species) 層級的鑑定研究則相對困難，其主要原因為該類線蟲可供種層級鑑定的形態構造和特徵較少，而且外觀形態相似的種間，依 de Man's formula 所換算的形態測量值 (morphometrics)，其範圍值間大多有不同程度的重疊，因此不同學者在同一時期的報告中，對於根腐線蟲有效種類 (valid species) 的認知就分別有 49 個⁽¹⁷⁾、55 個⁽²⁾ 及 63 個⁽¹⁹⁾ 的歧異。近年來，針對較具爭議性的昆蟲病原性⁽³²⁾ (entomopathogenic)、動物^(21, 22, 33) 和植物^(5, 7, 9, 12, 15, 16, 20, 27, 28, 34, 38) 寄生性的線蟲種類，以分子生物技術進行核糖體去氧核糖核酸 (ribosomal DNA, rDNA) 片段序列的差異性分析，已成為傳統形態鑑定之外較為客觀的輔助鑑別工具。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，陸續由茶樹、山藥、香蕉、竹、草莓、桶柑、柳橙、文旦、酪梨及食用玉米等作物上分離到根腐線蟲，其中從苗栗縣大湖和南投縣國姓二個地區的草莓園所採集到的 5 個根腐線蟲種群 (populations)，以及由台北縣坪林、南投縣名間和鹿谷等三個地區的茶園所採集的 4 個根腐線蟲種群，經由光學顯微鏡和 SEM 的形態特徵觀察、雌蟲及雄蟲的形態測量值與文獻資料比對，以及各種群間之 rDNA 片段序列差異度比較分析，其中在草莓上的根腐線蟲各種群皆鑑定為 *P. penetrans* (Cobb, 1917) Chitwood & Oteifa, 1952，而在茶樹上的根腐線蟲各種群皆為 *P. loosi* Loof, 1960，茲將鑑定結果詳述如後。

材料與方法

供試線蟲來源與製備

採集線蟲地點包括台灣草莓專業區的苗栗縣大湖鄉水尾、水頭寮及淋漓坪地區，南投縣國姓鄉福龜地區，以及茶葉主要產區的台北縣坪林、南投縣名間和鹿谷等地區。從上述地區的草莓園，選取數個管理良好且已採收完之草莓園，以小鐵鏟挖取各園中 3-5 個植

株，以採集剪下莖基部以下全部之根系，分別放入已編號的塑膠封口袋中。每一園區之根系樣本以剪刀切成約 1 公分長片段後，經攪拌混合均勻後，取適量之根系於二層衛生紙上，以改良式柏門氏漏斗分離法進行線蟲分離。至於茶園線蟲的分離方法是採集植株的根圈土樣，每包土樣先經攪拌混合後，秤取 4 個 100 公克土壤樣本，以同樣方法分離線蟲。上述根系和根圈土樣本隔夜靜置後，將漏斗底部之指形管內之線蟲懸浮液倒入小鏡檢皿中，以放大 20-80 倍率的解剖顯微鏡檢視記錄根腐線蟲數量，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，供線蟲基因體 (genomic DNA) 萃取之用，其餘蟲體則吸取至 2% 福馬林溶液 (formaldehyde solution) 中殺死及固定，供後續線蟲形態測量、SEM 觀察及標本保存所需。二種根腐線蟲供試種群的編號，分別如表一、二及表三內所示。

線蟲形態測量與電子顯微鏡觀察

根腐線蟲的形態測量方法，先以滴管將保存線蟲的福馬林溶液適量地滴至載玻片上，再以挑針將固定後之 3-5 隻雌蟲和雄蟲移置到滴液中，蓋上蓋玻片後，立即進行各項形態構造之幻燈片拍攝。首先以 200 倍的放大倍率拍攝體長、蟲體的體寬及陰門的位置，再以放大 400 倍的倍率分別拍攝蟲體的前端和尾部部位，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，尾部部分則主要為肛門的開口位置，最後再於放大 1000 倍率的油鏡頭下，拍攝唇部、口針 (stylet) 和交接刺 (spicule)，以及背部食道腺體的開口 (orifice of dorsally esophageal gland) 和側尾腺孔 (phasmid) 的位置等。關於前述所拍攝之幻燈片，線蟲各項構造的影像測量方法如 Chen 等⁽⁴⁾ 之報告中所述。至於線蟲唇部和體表構造的 SEM 觀察，首先必需將保存在 2% 福馬林溶液中的線蟲吸取至清水中漂洗 2-3 次，將線蟲體表附著的福馬林溶液洗淨後，放入液態氮中將線蟲瞬間冷凍，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⁽¹⁰⁾。

線蟲之 rDNA 片段序列及形態測量值統計分析

根腐線蟲各種群之 rDNA 片段是以 Vrain 等 (1992)⁽⁴²⁾ 所設計之通用性引子對 (universal primers)，將由 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

表一、台灣地區根腐線蟲 *Pratylenchus penetrans* 雌蟲之形態測量值與二個已記錄群之比較

Table 1. Comparison among the morphometrics of *Pratylenchus penetrans* female populations from Taiwan and the two reported populations

Character ¹	Locality (code)						
	Dahu (Ppen1)	Dahu (Ppen2)	Dahu (Ppen3)	Dahu (Ppen4)	Guoshing (Ppen5)	Corbett, 1973 ⁴	Wu <i>et al.</i> , 2002 ⁵
n	16	15	16	16	18	-	50
L (mm)	0.61 ± 0.05 ² a ³ (0.51-0.71)	0.58 ± 0.05ab (0.50-0.66)	0.56 ± 0.04b (0.45-0.63)	0.60 ± 0.03a (0.55-0.66)	0.54 ± 0.05b (0.45-0.66)	0.34-0.81	0.67 ± 0.03 (0.61-0.72)
a	31.7 ± 4.1a (23.9-40.0)	29.9 ± 4.3a (22.7-40.0)	31.5 ± 1.8a (28.1-35.7)	29.9 ± 2.8a (24.4-35.9)	32.1 ± 2.7a (26.7-36.3)	19-32	26.8 ± 3.6 (18.1-32.5)
b	-	-	-	-	-	5.3-7.9	5.6 ± 0.4 (4.8-6.5)
b'	4.9 ± 0.5a (3.8-5.9)	4.7 ± 0.4a (4.0-5.3)	4.5 ± 0.4ab (3.8-5.5)	4.7 ± 0.3a (3.9-5.3)	4.4 ± 0.3b (4.0-4.9)	-	-
c	21.8 ± 2.5a (18.2-26.7)	22.1 ± 2.3a (18.6-27.5)	20.2 ± 2.4a (16.1-26.8)	21.5 ± 2.4a (19.0-27.7)	21.9 ± 2.2a (18.7-26.1)	15-24	21.4 ± 2.2 (17.7-27.6)
c'	2.5 ± 0.3a (2.0-2.9)	2.3 ± 0.3a (1.9-2.8)	2.5 ± 0.3a (2.0-2.9)	2.5 ± 0.3a (1.8-2.9)	2.3 ± 0.3a (1.7-2.7)	-	-
V	79.1 ± 1.1a (77.3-80.9)	79.0 ± 1.9a (74.1-81.6)	79.1 ± 1.7a (76.4-82.5)	79.7 ± 1.4a (76.5-81.4)	79.1 ± 1.8a (75.4-82.0)	75-84	78.7 ± 2.2 (73.2-84.3)
Styilet (μm)	14.9 ± 0.6a (14.3-16.1)	14.9 ± 0.5a (14.3-15.7)	14.9 ± 0.4a (14.3-15.9)	15.2 ± 0.5a (14.5-16.0)	14.8 ± 0.4a (14.0-15.5)	15-17	16.6 ± 0.5 (15.3-17.3)
m	52.0 ± 1.2a (48.4-53.1)	51.7 ± 1.6a (49.0-53.8)	51.7 ± 1.0a (50.0-53.7)	53.3 ± 1.5a (50.3-55.3)	51.9 ± 2.1a (46.3-54.4)	-	-
ODEG (μm)	2.8 ± 0.3a (2.2-3.3)	2.8 ± 0.3a (2.1-3.3)	2.9 ± 0.4a (2.3-3.3)	3.0 ± 0.4a (2.4-3.7)	2.9 ± 0.3a (2.3-3.5)	-	3.0 ± 0.5 (2.3-4.0)
O	18.7 ± 2.2a (14.4-22.4)	18.9 ± 2.3a (14.3-23.1)	19.2 ± 2.7a (15.1-23.1)	19.6 ± 2.8a (15.8-25.2)	19.4 ± 2.6a (15.3-23.8)	-	-
EP (μm)	80 ± 10a (65-95)	69 ± 4b (62-75)	79 ± 9a (62-91)	71 ± 12ab (52-98)	73 ± 8a (63-89)	74-101	91.9 ± 12.5 (56.3-127.5)
P	13.1 ± 1.3ab (10.5-16.1)	11.7 ± 1.4b (9.8-15.0)	14.1 ± 1.7a (9.8-15.7)	11.8 ± 1.6b (9.1-14.8)	13.7 ± 1.3a (11.2-16.0)	-	-
LipH (μm)	2.3 ± 0.2a (1.9-2.5)	2.1 ± 0.1a (2.0-2.4)	2.2 ± 0.2a (2.0-2.5)	2.2 ± 0.2a (1.9-2.4)	2.2 ± 0.1a (2.1-2.3)	-	-
LipW (μm)	7.3 ± 0.4a (6.7-8.0)	6.9 ± 0.4a (6.5-7.5)	7.3 ± 0.4a (6.7-8.3)	7.1 ± 0.3a (6.7-7.5)	7.0 ± 0.5a (6.1-7.7)	-	-
SKW (μm)	3.4 ± 0.3a (2.8-4.0)	3.5 ± 0.3a (2.8-4.0)	3.3 ± 0.3a (2.9-3.9)	3.3 ± 0.2a (3.0-3.7)	3.4 ± 0.3a (2.9-3.9)	-	3.8 ± 0.4 (3.0-5.0)
MBW (μm)	10.3 ± 1.1a (8.7-12.5)	10.3 ± 0.7a (9.1-11.2)	9.4 ± 0.6a (8.5-10.7)	10.4 ± 0.7a (9.3-12.0)	9.9 ± 0.7a (8.7-11.3)	-	-
Tail (μm)	28 ± 2a (24-32)	26 ± 2ab (23-31)	28 ± 3a (22-35)	28 ± 3a (22-33)	25 ± 3b (18-30)	-	31.4 ± 3.1 (25-37.5)
ABW (μm)	12 ± 2a (9-14)	11 ± 1a (10-13)	11 ± 1a (9-13)	12 ± 1a (10-13)	11 ± 1a (10-12)	-	-

¹ n = no. of nematodes; L = body length; a = body length divided by the maximum body 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 styilet in %; ODEG = distance from base of styilet to the orifice of dorsal oesophageal gland; o=ratio between the length of ODEG and styilet 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= styilet knob width; MBW= median bulb width; ABW=Anal body width.

² Measurements in the form: mean ± 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 Corbett, 1973⁽¹⁴⁾

⁵ Wu, *et al.*, 2002⁽⁴⁴⁾

表二、台灣地區 *Pratylenchus penetrans* 雄蟲之形態測量值與二個已記錄群之比較Table 2. Comparison among the morphometrics of *Pratylenchus penetrans* male populations from Taiwan and the two reported populations

Character ¹	Locality (code)				
	Dahu (Ppen1)	Dahu (Ppen2)	Guoshing (Ppen5)	Corbett, 1973 ⁴	Wu <i>et al.</i> , 2002 ⁵
n	13	13	13	-	50
L (mm)	0.51 ± 0.05 ² a ³ (0.43-0.59)	0.51 ± 0.03a (0.45-0.55)	0.48 ± 0.03a (0.44-0.54)	0.305-0.574	0.50 ± 0.04 (0.41-0.55)
a	36.1 ± 2.8a (31.8-41.8)	34.0 ± 3.7a (27.7-41.5)	35.3 ± 2.0a (30.7-38.6)	23-34	31.6 ± 3.1 (23.6-35.6)
b	-	-	-	5.4-7.3	5.6 ± 0.4 (5.3-6.7)
b'	4.3 ± 0.3a (3.8-4.8)	4.3 ± 0.3a (3.9-4.7)	4.2 ± 0.2a (3.8-4.5)	-	-
c	19.6 ± 1.1a (18.2-21.5)	20.3 ± 1.5a (18.2-23.0)	20.5 ± 1.5a (18.0-23.5)	16-22	20.4 ± 2.5 (16.4-25.3)
c'	2.7 ± 0.3a (2.3-3.1)	2.4 ± 0.3b (1.8-2.8)	2.3 ± 0.2b (2.1-2.6)	-	-
Spicule (μm)	17.0 ± 1.0a (15.2-18.0)	17.1 ± 0.9a (16.0-18.3)	17.3 ± 1.0a (15.0-18.8)	14-17	14.9 ± 1.0 (13.8-16.3)
Gubernaculum (μm)	4.7 ± 0.5a (3.9-5.5)	4.1 ± 0.4a (3.7-4.7)	4.3 ± 0.4a (3.5-4.9)	3.9-4.2	3.7 ± 0.2 (3.4-5.3)
Stylet (μm)	14.0 ± 0.4a (13.2-14.7)	13.7 ± 0.5a (13.0-14.5)	13.8 ± 0.4a (13.2-14.3)	13-16	14.6 ± 1.0 (12.5-16.3)
m	51.8 ± 2.0a (47.6-54.8)	51.8 ± 1.5a (49.6-55.0)	52.7 ± 1.0a (51.0-54.1)	-	-
ODEG (μm)	2.9 ± 0.3a (2.5-3.3)	3.1 ± 0.3a (2.7-3.6)	3.1 ± 0.3a (2.7-3.5)	-	-
O	21.1 ± 2.5a (17.5-24.1)	22.7 ± 1.9a (20.1-26.3)	22.4 ± 1.8a (20.0-25.0)	-	-
EP (μm)	72 ± 8a (62-83)	72 ± 8a (55-84)	69 ± 5a (60-76)	66-79	-
P	14.2 ± 1.7a (11.1-16.5)	14.2 ± 1.3a (11.0-15.6)	14.4 ± 0.8a (13.3-15.9)	-	-
LipH (μm)	2.1 ± 0.1a (2.0-2.3)	2.2 ± 0.1a (2.0-2.3)	2.1 ± 0.1a (2.0-2.3)	-	-
LipW (μm)	6.4 ± 0.5a (5.5-7.3)	6.2 ± 0.4a (5.5-6.7)	6.1 ± 0.5a (5.5-7.2)	-	-
SKW (μm)	2.5 ± 0.2b (2.1-3.0)	2.8 ± 0.2a (2.5-3.2)	2.6 ± 0.3ab (2.1-2.9)	-	-
MBW (μm)	8.2 ± 0.6a (7.3-9.2)	8.5 ± 0.6a (7.7-9.7)	8.3 ± 0.5a (7.3-9.0)	-	-
Tail (μm)	26 ± 2a (20-30)	25 ± 3ab (22-29)	23 ± 1b (21-25)	-	24.6 ± 2.9 (20-31.3)
ABW (μm)	10 ± 1a (8-12)	11 ± 1a (10-13)	10 ± 1a (9-11)	-	-

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

段包含完整的 5.8S 基因和內轉錄區間 ITS-1 和 ITS-2 (internal transcribed spacers, ITS-1, 2), 以及部分的 18S 和 28S 基因的序列。至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) 及解序等之詳細方法皆依據 Chen 等⁽⁶⁾ 之報告。至於二種根腐線蟲之各種群間的 rDNA 片段序列相同度分析, 所採用的分析軟體 (SeqWeb 3.1.2, GCG) 和參數設定值 (gap weight 50, length weight 3) 皆和 Chen 等⁽⁴⁾ 之報告相同。另根腐線蟲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, V8.2) 進行變方分析。

線蟲 rDNA 片段序列之代表性序列

本研究的二種根腐線蟲, 其各別代表性序列 (一致性序列, consensus sequence) 的產生方式如下: 在 5 群 *Pratylenchus penetrans* 中 (表一), 從 Ppen1,2,4 等 3 群中, 各挑取 3 個選殖體, 以及由 Ppen3 和 Ppen5 二群, 依序分別挑取 2 個和 4 個選殖體, 共計 15 個選殖體進行解序, 再由此 15 個 rDNA 片段原始序列以 Pretty program (SeqWeb 3.1.2, GCG) 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. penetrans* 之代表性序列 (916 bp, Accession No. FJ799117)。另 4 群的 *P. loosi* (表三), 從 Ploo 1 和 Ploo3 各挑取 4 個選殖體, 另從 Ploo2 挑取 5 個選殖體, 共計 13 個選殖體進行解序, 再由此 13 個 rDNA 片段原始序列以前述相同方法產生其代表性序列 (1238 bp, Accession No. FJ799118)。

另外這二種根腐線蟲的 rDNA 代表性序列中的 5.8S 基因、ITS-1 及 ITS-2 各別的序列區間位置的推測範圍, 其方法是經由和 NCBI (National center for biotechnology information, U. S.) 的 GenBank 序列資料庫中所登錄之根腐線蟲 *Pratylenchus zae* (967 bp, Accession No. FJ643590)⁽¹¹⁾、根腐線蟲 *P. coffeae* (1249 bp, Accession No. FJ799119) (筆者未發表資料)、稻穿根線蟲 *Hirschmanniella oryzae* (1001 bp, DQ309588) 和 *H. mucronata* (962 bp, Accession No. DQ309589)⁽⁸⁾ 等 4 種線蟲的 rDNA 片段序列, 以 BestFit program (SeqWeb 3.1.2, GCG) 進行成雙比對後所推估得之。

結 果

根腐線蟲 *Pratylenchus penetrans* 之鑑定

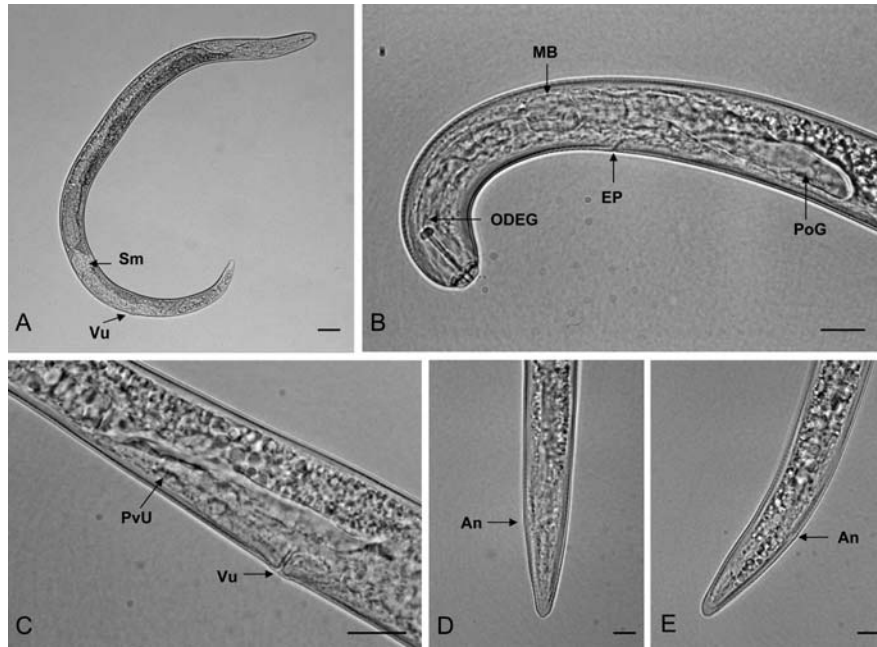
由台灣地區主要草莓園區所分離鑑定的 5 個 *Pratylenchus penetrans* 雌蟲種群的主要形態測量值 (表

一), 除蟲體的長度 (L 項)、b' 項、頭端至排泄孔的距離 (EP 項)、p 項及尾部的長度 (Tail 項) 等 5 項的平均值在各種群間有較大的差異外, 其他如口針的長度 (stylet 項)、陰門在蟲體的位置 (V 項)、以及背部食道腺體的開口位置與口針基部球的距離 (ODEG 項) 等共計 13 項的平均值在各種群間並無顯著差異情形 ($P < 0.01$)。至於雄蟲之形態測量值 (表二), 其中除 Ppen1 的 c' 項之平均值 (2.7) 和其餘 2 群有顯著差異外 ($P < 0.01$), 其他如蟲體 (L 項)、口針 (stylet 項) 及交接刺 (spicule 項) 的長度等共計 16 項的平均值在 3 個種群間皆無顯著差異 ($P < 0.01$)。

Pratylenchus penetrans 雌蟲體型屬於稍微肥胖型, 蟲體之最大平均寬度約 $19.0 \mu\text{m}$ ($14\text{-}26 \mu\text{m}$), 陰門 (vulva) 位於蟲體後端 ($V=74.1\text{-}82.56\%$), 貯精囊 (spermatheca) 圓球形 (圖一、A)。唇端低平, 頭唇部上具有 3 個體環 (annules), 唇盤 (labial disc) 呈啞鈴形 (dumbbell-shaped), 與唇板 (labial plate) 間有分隔 (圖一、B; 圖三、B 和 C)。口針結球 (stylet knob) 大多呈現圓形, 中部食道球 (median bulb) 卵圓形, 後部食道腺體 (post-oesophageal bulb) 與腸道前端為腹部重疊, 重疊區域明顯; 排泄孔 (excretory pore) 位於狹細部中段位置, 其前面緊接半月體 (hemizonid) (圖一、B; 圖三、A)。尾部形態為鈍狀圓弧形 (bluntly pointed), 尾端平滑 (smooth), 無體環存在 (unannulated) (圖一、D 和 E; 圖三、E 和 F)。蟲體兩側之側帶 (lateral field) 具有 4 條側帶溝 (incisures), 但少數側帶上之內側二條側線間出現不連續之條紋 (圖三、D), 其寬度之平均值約 $5.1 \mu\text{m}$ ($4.0\text{-}6.9 \mu\text{m}$), 約佔體寬的 $1/4$ 。側尾腺孔 (phasmids) 至尾端間的距離約為 $15.4 \mu\text{m}$ ($12.0\text{-}19.3 \mu\text{m}$)。後部子宮囊 (post-vulval uterine sac) 無分化, 長度約 $36.7 \mu\text{m}$ ($28.0\text{-}53.3 \mu\text{m}$) (圖一、C)。

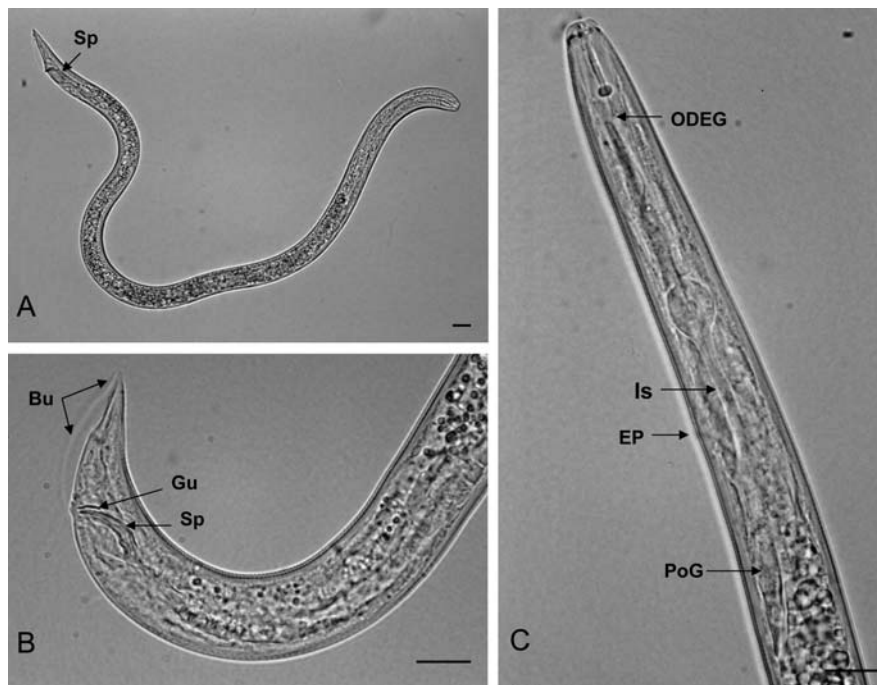
P. penetrans 的雄蟲個體普遍存在, 其整體外觀體型, 除了生殖系統上的顯著差異, 以及蟲體較雌蟲為短小細長, 蟲體之平均寬度為 $14.3 \mu\text{m}$ ($11\text{-}17 \mu\text{m}$), 其他如頭唇部低平、具有 3 個體環且唇盤為啞鈴形的構造, 以及口針、中部食道球及後部食道腺體等之消化系統構造皆和雌蟲相當類似 (圖二、A 和 C; 圖四、A 和 B)。 *P. penetrans* 雄蟲之尾部尖細, 交接囊 (bursa) 向後延伸至尾端 (圖二、B; 圖四、C)。

rDNA 片段序列的比對方面, *P. penetrans* 的 5 個種群, 總共 15 個選殖體之原始序列 (906-925 bp) 和其代表性序列 (916 bp) 的相同度為 97.4-98.6%, 其平均值為 98.0%。至於 *P. penetrans* 的代表性序列和前述 3 種根腐線蟲 *P. coffeae*, *P. zae* 及 *P. loosi* 之代表性序列間的相同度, 依序分別為 81.7%、78.8% 及 80.9%。另



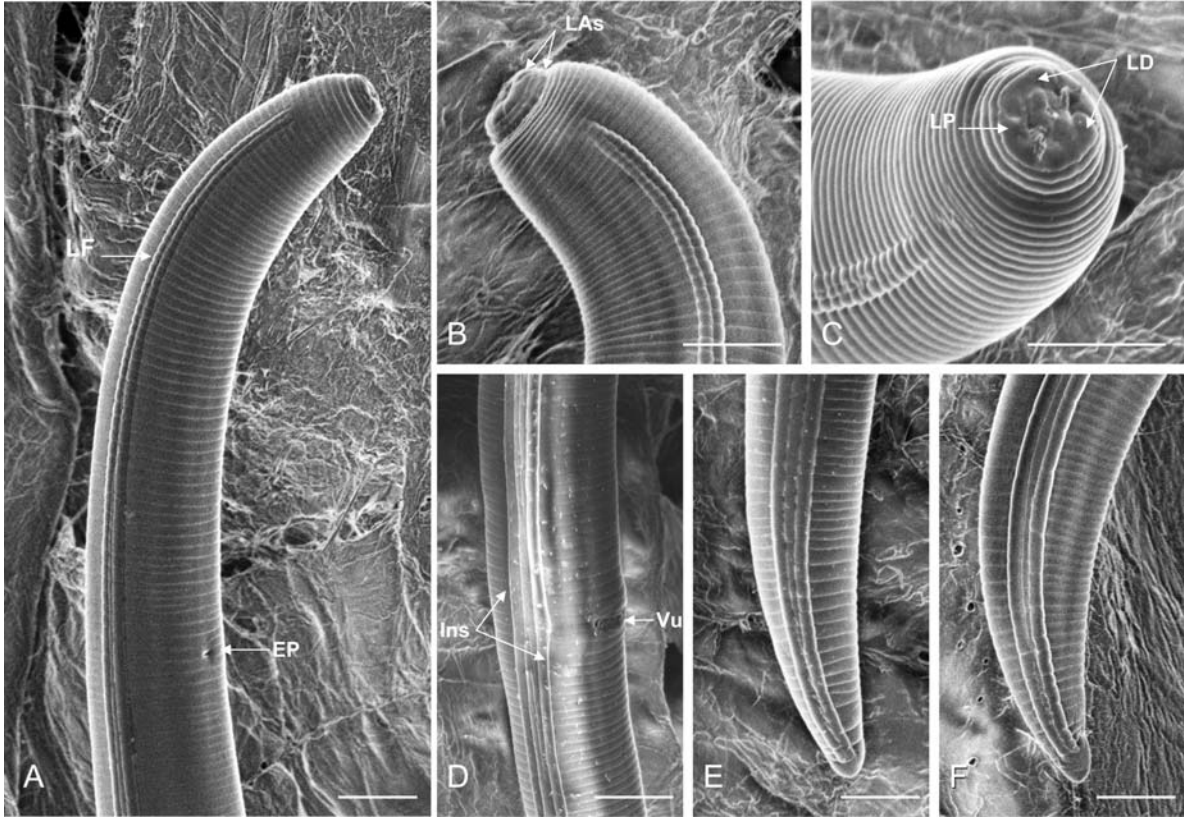
圖一、*Pratylenchus penetrans* 雌蟲之光學影像形態：A, 完整蟲體 (Sm, 受精囊；Vu, 陰門)；B, 蟲體頭端部分 (EP, 排泄孔；ODEG, 背部食道腺體之開口位置；MB, 中部食道球；PoG, 後部食道腺體)；C, 陰門部位 (PvU, 後部子宮囊；Vu, 陰門)；D 和 E, 尾端部分 (An, 肛門)。比例尺長度：A = 20 微米；B 至 E = 10 微米。

Fig. 1. Photomicrographs of *Pratylenchus penetrans* female: A, Whole body (Sm, spermatheca; Vu, vulva); B, Anterior region (EP, excretory pore; ODEG, orifice of dorsal oesophageal gland; MB, median bulb; PoG, post-oesophageal gland); C, Vulval region (PvU, post-vulval uterine sac; Vu, vulva); D&E, Tail region (An, anus). Scale bars in A = 20 μ m; B-E = 10 μ m.



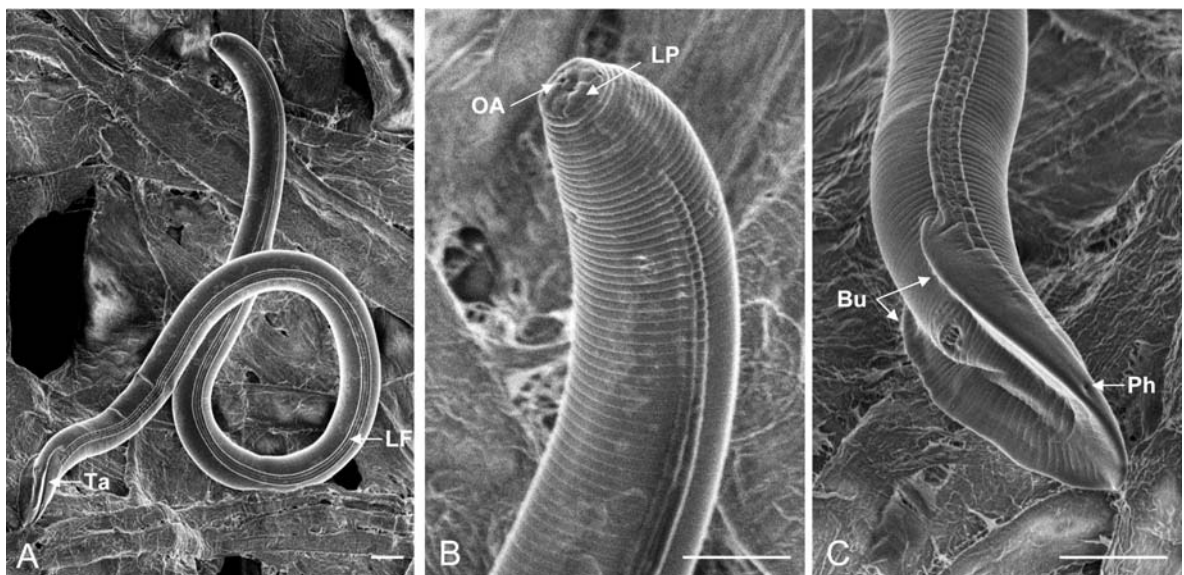
圖二、*Pratylenchus penetrans* 雄蟲之光學影像形態：A, 完整蟲體 (Sp, 交接刺)；B, 尾端部分 (Bu, 交接囊；Gu, 副刺, Sp, 交接刺)；C, 頭端部分 (EP, 排泄孔；Is, 狹細部；ODEG, 背部食道腺體之開口位置；PoG, 後食道腺體)。比例尺長度：A = 15 微米；B 和 C = 10 微米。

Fig. 2. Photomicrographs of *Pratylenchus penetrans* male: A, Whole body (Sp, spicule); B, Tail region (Bu, bursa; Gu, gubernaculum; Sp, spicule); C, Anterior region (EP, excretory pore; Is, isthmus; ODEG, orifice of dorsal oesophageal gland; PoG, post-oesophageal gland). Scale bars in A = 15 μ m; B & C = 10 μ m.



圖三、*Pratylenchus penetrans* 雌蟲之 SEM 影像形態：A, 頭端部分 (EP, 排泄孔；LF, 側帶)；B 和 C, 口唇部分 (LAs, 唇區體環；LD, 唇盤；LP, 唇板)；D, 中段部分 (Ins, 側線；Vu, 陰門)；E 和 F, 尾部。比例尺長度：A 至 F = 10 微米。

Fig. 3. SEM photomicrographs of *Pratylenchus penetrans* female: A, Anterior region (EP, excretory pore; LF, lateral field); B&C, Oral region (LAs, lip annules, LD, labial disc; LP, labial plate); D, Middle region (Ins, incisures; Vu, vulva); E&F, Tail region. Scale bars in A-F = 10 μ m.



圖四、*Pratylenchus penetrans* 雄蟲之 SEM 影像形態：A, 完整蟲體 (LF, 側帶；Ta, 尾部)；B, 口唇部分 (OA, 口腔開口；LP, 唇板)；C, 尾端部分 (Bu, 交接囊；Ph, 側尾腺孔)。比例尺長度：A 至 C = 10 微米。

Fig. 4. SEM photomicrographs of *Pratylenchus penetrans* male: A, Whole body (LF, lateral field; Ta, tail); B, Oral region (OA, oral aperture, LP, labial plate); C, Tail region (Bu, bursa; Ph, phasmid). Scale bars in A-C = 10 μ m.

表三、台灣地區根腐線蟲 *Pratylenchus loosi* 雌蟲之形態測量值與三個已記錄群之比較Table 3. Comparison among the morphometrics of *Pratylenchus loosi* female populations from Taiwan and the three reported populations

Character ¹	Locality (code)						
	Pinglin (Ploo1)	Mingchien (Ploo2)	Lugu (Ploo3)	Lugu (Ploo4)	Seinhorst., 1977 ⁴	Inserra <i>et al.</i> , 2001 ⁵	Wu <i>et al.</i> , 2002 ⁶
n	16	16	16	16	34	20	50
L (mm)	0.54 ± 0.05 ² ab ³ (0.48-0.68)	0.52 ± 0.04b (0.47-0.59)	0.56 ± 0.04a (0.48-0.62)	0.56 ± 0.04a (0.49-0.64)	0.575 (0.48-0.64)	0.52 ± 0.05 (0.43-0.62)	0.61 ± 0.06 (0.49-0.71)
a	33.7 ± 2.9a (27.9-39.3)	32.7 ± 3.2a (26.3-36.9)	32.3 ± 2.9a (25.5-35.9)	33.0 ± 2.7a (29.0-37.9)	31.9 (28-36)	24.7 ± 3.8 (19.5-29.9)	29.5 ± 2.6 (24.4-35.7)
b	-	-	-	-	6.4 (5.7-7.1)	5.7 ± 0.8 (4.7-7.1)	6.5 ± 0.5 (5.4-7.5)
b'	4.2 ± 0.4a (3.5-5.1)	3.7 ± 0.4b (3.2-4.5)	3.9 ± 0.4ab (3.3-4.5)	3.9 ± 0.3a (3.4-4.3)	-	-	-
c	19.3 ± 1.4a (16.2-21.3)	19.1 ± 1.1a (16.8-20.8)	18.7 ± 2.0a (15.8-21.8)	19.8 ± 1.3a (17.0-22.0)	19.9 (18-25)	18.3 ± 1.4 (16.2-20.5)	19.5 ± 1.6 (15.1-22.5)
c'	2.8 ± 0.2a (2.3-3.3)	2.8 ± 0.3a (2.3-3.3)	2.8 ± 0.4a (2.3-3.7)	2.7 ± 0.3a (2.3-3.3)	-	-	-
V	81.7 ± 1.3ab (79.5-83.6)	80.6 ± 1.1b (79.1-82.2)	82.9 ± 1.7a (79.1-84.9)	81.9 ± 1.5a (79.1-85.0)	82.5 (79-85)	80.2 ± 1.3 (78.5-82.5)	81.2 ± 1.4 (78.2-84.7)
Stylet (μm)	16.9 ± 0.8bc (16.0-18.8)	16.8 ± 0.6c (16.0-18.0)	17.6 ± 0.8ab (16.3-18.7)	17.5 ± 0.8a (16.3-19.0)	14-18	16.1 ± 0.7 (15.0-17.5)	17.3 ± 0.5 (16.3-19.0)
m	50.5 ± 1.7b (46.1-52.5)	50.4 ± 1.0b (47.9-51.8)	51.8 ± 1.5a (49.7-55.1)	51.3 ± 1.5a (49.1-54.2)	-	-	-
ODEG (μm)	2.8 ± 0.3a (2.3-3.3)	2.2 ± 0.2c (2.0-2.7)	2.7 ± 0.4ab (2.1-3.5)	2.9 ± 0.2a (2.3-3.2)	-	3.4 ± 0.3 (2.8-4.0)	3.1 ± 0.5 (1.9-5.0)
O	16.3 ± 2.1a (12.8-20.6)	12.9 ± 1.4c (11.1-16.9)	15.4 ± 2.1ab (11.7-19.1)	16.3 ± 1.6a (13.3-19.4)	-	-	-
EP (μm)	74 ± 7a (57-82)	76 ± 9a (65-93)	75 ± 7a (61-84)	77 ± 8a (66-95)	-	75.4 ± 6.2 (63.5-87.0)	94 ± 6.7 (80-115)
P	13.8 ± 1.2a (11.0-15.7)	14.6 ± 1.8a (11.4-19.4)	13.5 ± 1.7a (10.2-16.7)	13.8 ± 1.5a (11.3-16.1)	-	-	-
LipH (μm)	2.0 ± 0.2a (1.7-2.3)	2.0 ± 0.1a (1.7-2.3)	2.1 ± 0.1a (1.9-2.2)	2.0 ± 0.1a (1.7-2.1)	-	-	-
LipW (μm)	7.3 ± 0.7a (6.3-8.5)	7.3 ± 0.6a (6.4-8.0)	7.4 ± 0.4a (7.0-8.0)	7.4 ± 0.5a (6.7-8.1)	-	-	-
SKW (μm)	4.0 ± 0.3a (3.5-4.3)	4.1 ± 0.4a (3.2-4.7)	4.0 ± 0.4a (3.3-4.7)	4.1 ± 0.4a (3.5-5.0)	-	4.3 ± 0.3a (3.9-4.9)	4.4 ± 0.3 (3.8-5.1)
MBW (μm)	9.9 ± 0.5b (9.3-10.7)	10.0 ± 1.0ab (8.0-11.7)	10.8 ± 0.9a (9.9-12.7)	10.3 ± 0.9a (8.7-12.3)	-	-	-
Tail (μm)	28 ± 4a (23-35)	27 ± 3a (24-32)	30 ± 2a (25-33)	28 ± 2a (24-31)	-	29.9 ± 2.8 (24.5-36.0)	34.2 ± 1.7 (28.1-40.6)
ABW (μm)	10 ± 1a (9-12)	10 ± 1a (8-12)	11 ± 1a (9-12)	10 ± 1a (9-12)	-	12.1 ± 1.2 (9.8-15.0)	-

^{1,2,3} See table 1.⁴ Seinhorst, 1977⁽³⁶⁾⁵ Inserra *et al.*, 2001⁽²⁸⁾⁶ Wu, *et al.*, 2002⁽⁴⁴⁾

表四、台灣地區 *Pratylenchus loosi* 雄蟲之形態測量值與三個已記錄群之比較Table 4. Comparison between the morphometrics of *Pratylenchus loosi* male populations from Taiwan and the three reported populations

Character ¹	Locality (code)					
	Pinglin (Ploo1)	Mingchien (Ploo2)	Lugu (Ploo4)	Seinhorst., 1977 ⁴	Inserra <i>et al.</i> , 2001 ⁵	Wu <i>et al.</i> , 2002 ⁶
n	12	13	12	15	10	50
L (mm)	0.46 ± 0.04 ² a ³ (0.39-0.54)	0.48 ± 0.04a (0.42-0.55)	0.49 ± 0.03a (0.42-0.54)	0.464 (0.38-0.58)	0.56 ± 0.03 (0.50-0.61)	0.56 ± 0.03 (0.42-0.61)
a	36.0 ± 2.9a (30.0-39.2)	36.8 ± 4.4a (26.1-42.3)	35.7 ± 2.4a (31.9-40.0)	35.3 (28-41)	28.3 ± 1.4 (25.7-32.1)	35.0 ± 3.2 (28.8-40.0)
b	-	-	-	5.9 (5.4-6.7)	6.2 ± 0.3 (5.8-6.7)	5.5 ± 0.5 (4.8-6.4)
b'	3.9 ± 0.4a (3.3-4.7)	4.1 ± 0.3a (3.6-4.7)	3.9 ± 0.3a (3.4-4.3)	-	-	-
c	20.0 ± 1.6a (17.8-22.3)	18.5 ± 1.7a (15.7-20.9)	20.2 ± 1.2a (18.3-23.2)	20.8 ± 1.4 (18.5-23.2)	21.4 ± 1.4 (19.7-24.3)	21.4 ± 1.4 (18.9-23.7)
c'	2.5 ± 0.2a (2.2-2.9)	2.7 ± 0.2a (2.3-3.0)	2.6 ± 0.3a (2.2-2.9)	-	-	-
Spicule (μm)	17.9 ± 0.7a (16.1-18.7)	17.7 ± 1.2a (16.0-20.0)	17.9 ± 0.6a (16.7-19.0)	-	16.2 ± 0.6 (15.0-17.0)	17.4 ± 1.3 (15.5-20.0)
Stylet (μm)	15.2 ± 0.6a (14.4-16.3)	15.0 ± 0.6a (14.0-16.0)	15.4 ± 0.6a (14.5-16.0)	12-16	15.0 ± 0.2 (14.7-15.5)	15.0 ± 1.3 (12.5-16.5)
m	50.8 ± 1.9a (48.4-54.1)	52.5 ± 2.0a (49.3-55.6)	51.1 ± 1.5a (48.7-53.6)	-	-	-
ODEG (μm)	3.0 ± 0.6a (2.5-4.0)	2.4 ± 0.2b (2.0-2.7)	3.2 ± 0.3a (2.8-3.5)	-	3.7 ± 0.3 (3.0-4.0)	-
O	19.9 ± 3.3a (16.7-25.8)	16.3 ± 1.7b (13.2-19.3)	20.8 ± 2.2a (17.5-24.1)	-	-	-
EP (μm)	66 ± 7a (58-77)	70 ± 14a (46-88)	70 ± 6a (60-81)	-	89.0 ± 5.2 (78.5-96.0)	-
P	14.4 ± 1.2a (12.6-16.3)	14.5 ± 2.0a (10.5-16.7)	14.5 ± 1.2a (12.5-16.0)	-	-	-
LipH (μm)	1.9 ± 0.2a (1.5-2.2)	1.9 ± 0.2a (1.6-2.1)	1.9 ± 0.1a (1.7-2.0)	-	-	-
LipW (μm)	6.4 ± 0.5a (5.5-7.3)	6.1 ± 0.3a (5.9-6.7)	6.0 ± 0.3a (5.5-6.5)	-	-	-
SKW (μm)	2.8 ± 0.2ab (2.5-3.2)	2.7 ± 0.3b (2.3-3.2)	3.0 ± 0.2a (2.8-3.3)	-	3.1 ± 0.1 (2.9-3.4)	-
MBW (μm)	8.3 ± 0.7a (7.2-9.1)	7.8 ± 0.6a (6.8-8.8)	8.1 ± 0.5a (7.3-8.7)	-	-	-
Tail (μm)	23 ± 1b (21-25)	26 ± 2a (23-30)	24 ± 1ab (22-27)	-	26.3 ± 1.6 (24.0-29.0)	28.5 ± 1.6 (26.3-31.3)
ABW (μm)	9 ± 1a (8-10)	10 ± 1a (8-12)	10 ± 1a (8-11)	-	-	-

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

P. penetrans 代表性序列中的 ITS-1、ITS-2 及 5.8S 的序列大小，依序分別為 264 bp、197 bp 及 156 bp。

根腐線蟲 *Pratylenchus loosi* 之鑑定

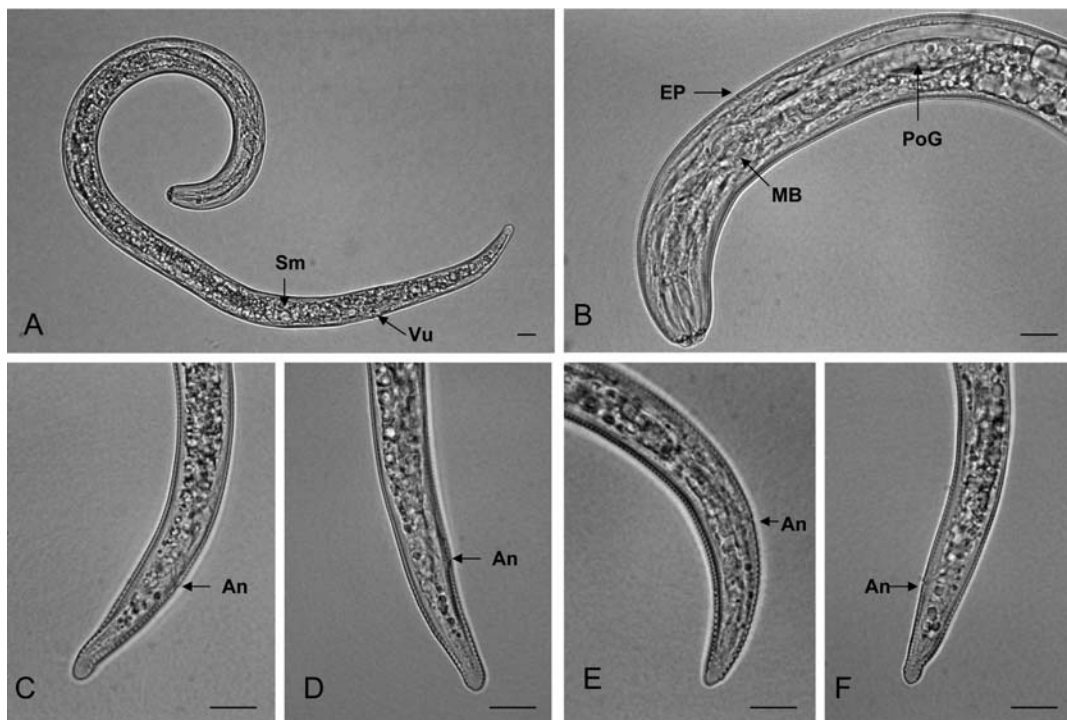
由台灣地區 3 個主要產茶區所分離鑑定的 4 個 *Pratylenchus loosi* 雌蟲種群的主要形態測量值(表三)，除 Ploo2 的 ODEG 項和 O 項的測量平均值與其他 3 個種群間有顯著差異 ($P < 0.01$) 外，其餘 16 項的測量平均值在各種群間之差異不大，而其中 a、c、c'、EP、P、LipH、LipW、SKW、Tail 及 ABW 等共 10 項的平均值在各種群間皆無顯著差異 ($P < 0.01$)。至於雄蟲之形態測量值(表四)，其中同樣除 Ploo2 的 ODEG 項和 O 項的平均值與其餘 2 個種群間有顯著差異 ($P < 0.01$) 外，在其餘 16 項之平均值中，除了 SKW 和 Tail 二項外，其他 14 項的平均值在各種群間皆無顯著差異 ($P < 0.01$)。

Pratylenchus loosi 雌蟲體型亦屬於稍微肥胖型，蟲體之最大平均寬度約 $16.8 \mu\text{m}$ ($13\text{-}22 \mu\text{m}$)；陰門位於蟲體後端 ($V=79.1\text{-}85.0\%$)，貯精囊圓球形(圖五、A)。唇端低平，頭唇部上只具有 2 個體環，且唇盤為平滑面(smooth face)，與唇板融合(圖五、B；圖七、A 和 B)。口針結球外觀大多為圓球形，中部食道球卵圓

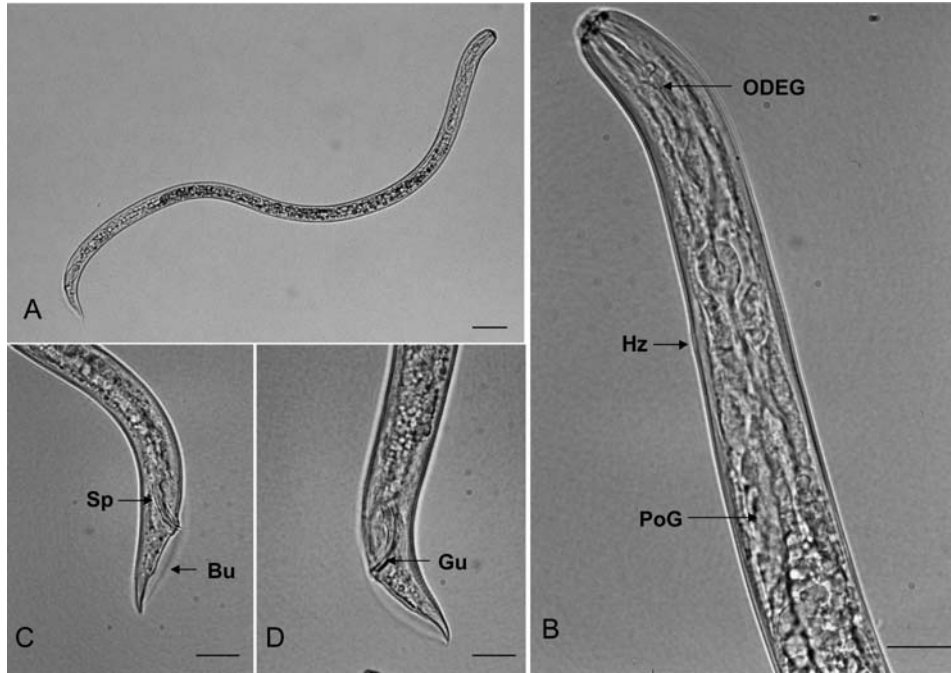
形，後部食道腺體與腸道前端為腹部重疊，重疊區域明顯；排泄孔位於狹細部中段位置，緊接於半月體後面(圖五、B)。尾部和尾端之形態與 *P. penetrans* 相類似，尾端為半圓球形或稍微突起，表面平滑且皆未有體環分佈(圖五、C, D, E, F；圖七、D 和 E)；側尾腺孔小，至尾端之長度平均值為 $16.9 \mu\text{m}$ ($12.7\text{-}22.7 \mu\text{m}$) (圖七、D 和 E)。側帶具有 4 條側帶溝，但少數側帶上之內側二條側線間亦會出現不連續之條紋(圖七、C)，側帶寬度之平均值約 $5.4 \mu\text{m}$ ($4.1\text{-}6.7 \mu\text{m}$)，約佔體寬的 1/3。後部子宮囊無分化，長度約 $28.6 \mu\text{m}$ ($18.7\text{-}34.2 \mu\text{m}$)。

P. loosi 的雄蟲亦相當常見，蟲體之平均寬度為 $13.3 \mu\text{m}$ ($10\text{-}18 \mu\text{m}$)，其整體外觀體型，除了生殖系統上的顯著差異外，以及蟲體較為短小細長，其消化系統構造仍十分發達，且和雌蟲相當雷同(圖六、A 和 B)。雄蟲之尾部更尖細，交接囊向後包埋至尾端(圖六、C 和 D)。

rDNA 片段序列的比對方面，*P. loosi* 的 3 個種群，總共 13 個選殖體之原始序列(1209-1245 bp)和其代表性序列(1238 bp)的相同度為 98.8-99.5%。至於 *P. loosi* 的代表性序列和前述根腐線蟲 *P. coffeae* 和 *P. zeae* 之代表性序列間的相同度，依序分別為 83.4% 和

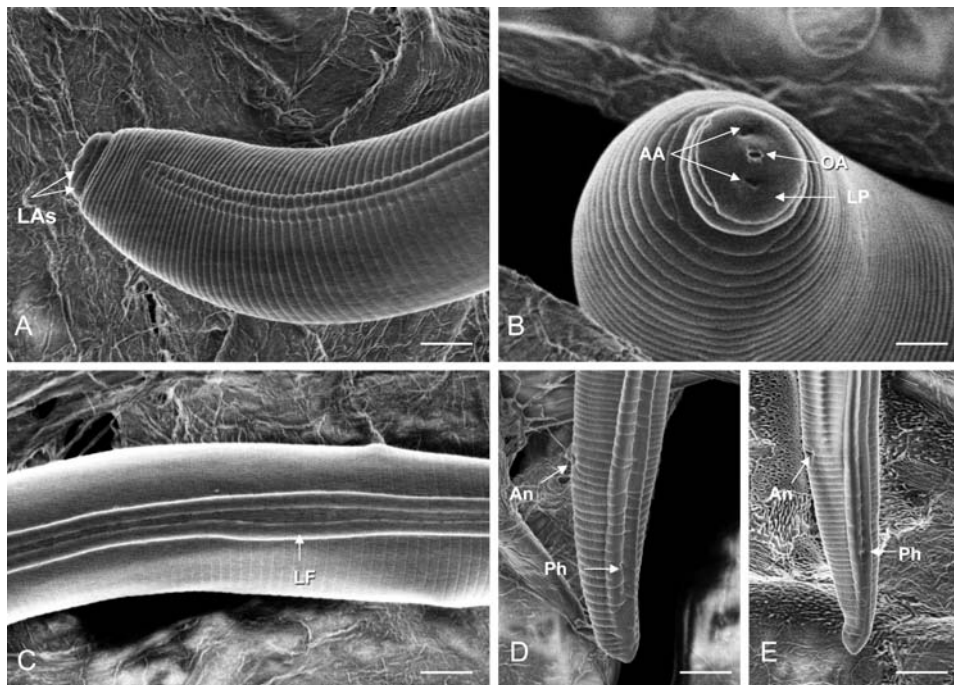


圖五、*Pratylenchus loosi* 雌蟲之光學影像形態：A，完整蟲體 (Sm, 受精囊；Vu, 陰門)；B，頭端部分 (EP, 排泄孔；MB, 中部食道球；PoG, 後部食道腺體)；C 至 F，尾端部位 (An, 肛門)。比例尺長度：A 至 F = 10 微米。
Fig. 5. Photomicrographs of *Pratylenchus loosi* female: A, Whole body (Sm, spermatheca; Vu, vulva); B, Anterior region (EP, excretory pore; MB, median bulb; PoG, post-oesophageal gland); C-F, Tail region (An, anus). Scale bars in A-F = 10 μm .



圖六、*Pratylenchus loosi* 雄蟲之光學影像形態：A, 完整蟲體；B, 頭端部分 (Hz, 半月體；ODEG, 背部食道腺體之開口位置；PoG, 後部食道腺體)；C 和 D, 尾端部分 (Bu, 交接囊；Gu, 副刺；Sp, 交接刺)。比例尺長度：A = 20 微米；B 至 D = 10 微米。

Fig. 6. Photomicrographs of *Pratylenchus loosi* male: A, Whole body; B, Anterior region (Hz, hemizonid; ODEG, orifice of dorsal oesophageal gland; PoG, post- oesophageal gland); C&D, Tail region (Bu, bursa; Gu, gubernaculum; Sp, spicule). Scale bars in A = 20 μ m; B-D = 10 μ m.



圖七、*Pratylenchus loosi* 雌蟲之SEM影像形態：A, 頭端部分 (LAs, 唇部體環)；B, 口唇部分 (AA, 雙器口；LP, 唇板；OA, 口腔開口)；C, 中段部分 (LF, 側帶)；D 和 E, 尾部 (An, 肛門；Ph, 側尾腺孔)。比例尺長度：A 至 E = 5 微米。

Fig. 7. SEM photomicrographs of *Pratylenchus loosi* female: A, Anterior region (LAs, lip annules); B, Oral region (AA, amphid aperture, LP, labial plate; OA, oral aperture); C, Middle region (LF, lateral field); D&E, Tail region (An, anus; Ph, phasmid). Scale bars in A-E = 5 μ m.

78.1%。另 *P. loosi* 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、297 bp 及 157 bp。

討 論

在本研究中所鑑定的 5 群 *Pratylenchus penetrans* 雌蟲，其中雖然有 5 項的形態測量值在各種群間顯現較大的差異，但是其測量值的範圍呈現明顯的重疊，而且包括 stylet、V 及 ODEG 等共計 13 項的測量平均值在各種群間無顯著差異情形。另外在 *P. penetrans* 的雄蟲部分，雖然 Ppen1 的 c' 項值和 Ppen2 及 Ppen5 有顯著差異，但是包含 L、spicule 和 stylet 等共計 16 項的測量平均值在 3 個種群間皆無顯著差異。另外，Ppen1 的 3 個 rDNA 片段原始序列 (910, 919, 921 bp) 與 *P. penetrans* 的代表性序列 (916 bp) 之大小相近，且序列相同度為 97.4-98.6%。同樣地，4 個供試種群的 *P. loosi* 雌蟲中，雖然 Ploo2 的 ODEG 和 O 項的測量平均值與其餘種群間有顯著差異，但是其測量值的範圍仍有明顯重疊部分，而且其他共計 10 項的測量平均值在各種群間皆無顯著差異。另外 *P. loosi* 的雄蟲部分，同樣是 Ploo2 的 ODEG 和 O 項的測量平均值與其餘 2 個種群間有顯著差異，但是也有其他 14 項的測量平均值在全部種群間無顯著差異。至於 Ploo2 的 5 個 rDNA 片段原始序列之大小 (1214-1219 bp) 與 *P. loosi* 的代表性序列 (1238 bp) 相近，且序列相同度為 98.8-99.1%。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，確定本研究從草莓根系上所分離的 5 個根腐線蟲供試種群皆屬於同一種根腐線蟲 *P. penetrans*，而由茶樹根圈土所分離之 4 個供試種群皆為 *P. loosi*。

本研究由台灣地區草莓上所分離鑑定的 *P. penetrans*，其最主要的外觀形態特徵是頭唇部上具有 3 個體環、唇部上之唇盤呈現啞鈴形、尾端平滑及雄蟲個體普遍存在，這些特徵都符合對 *P. penetrans* 的形態描述^(2, 3, 14, 17, 19)。至於在形態測量值方面，本研究與 Corbett (1973)⁽¹⁴⁾ 報告中所列之雌蟲和雄蟲的測量值範圍皆有明顯的重疊情形，而和 Wu 等 (2002)⁽⁴⁴⁾ 同樣自大湖草莓所分離鑑定的資料則有些許差異，其中具有較大差異的項目為本研究所測量的雌蟲，其排泄孔位置至頭端之距離平均值 (EP 項) 較小 (69-80 μm 和 91.9 μm)，以及口針的長度亦較短 (14.8-15.2 μm 和 16.6 μm)，另外蟲體的長度也較短小 (0.54-0.61 μm 和 0.67 mm)，但是上述三項的測量值範圍皆有明顯重疊的情形；至於雄蟲部分，蟲體的長度則相當吻合 (0.48, 0.51, 0.51 mm 和 0.5 mm)，但是交接刺的長度 (spicule

項) 有較明顯的差異 (17.0, 17.1, 17.3 μm 和 14.9 μm)。

本研究另一由台灣地區茶樹上所分離鑑定的根腐線蟲 *P. loosi*，其雌蟲和雄蟲的形態測量平均值與 Seinhorst 等 (1977)⁽³⁶⁾ 之報告中所列的項目都相當接近。另外和 Inserra 等 (2001)⁽²⁸⁾ 之雌蟲鑑定資料比對，其中蟲體的長度相近 (0.52-0.56 mm 和 0.52 mm)，但是本研究的 a 項值卻明顯較大 (32.3-33.7 和 24.7)，由此可知 Inserra 等鑑定斯里蘭卡 (Sri Lanka) 茶樹之雌蟲樣本，其蟲體顯然較為寬大肥胖；另外必需在放大倍率較大之油鏡頭下，才能清楚觀察到的背部食道腺體的開口位置，其距離口針基部結球底部的距離 (ODEG 項)，在本研究中顯然較短 (2.2-2.9 μm 和 3.4 μm)。在雌蟲間除了上述二個測量項目具有較大差異外，其餘測量項目皆相當符合，但是於雄蟲的部分，除了 a 項和 ODEG 項，蟲體的長度 (L 項)、交接刺 (spicule 項) 及排泄孔至頭部頂端的距離 (EP 項) 等合計 5 項的測量值皆有較為明顯的差異，但同樣地其測量值範圍都有部分的重疊。至於和 Wu 等 (2002)⁽⁴⁴⁾ 先前所發表的資料比較，本研究之雌蟲樣本的 EP 項值，顯然較小 (74-77 μm 和 94 μm)，另外尾部 (Tail 項) 亦較為短小 (27-30 μm 和 34.2 μm)，而其餘測量項目皆頗相符。另外雄蟲部分，Wu 等所測得的蟲體 (L 項) 顯然較大 (0.46, 0.48, 0.49 mm 和 0.56 mm)，尾部 (Tail 項) 亦較長 (23, 26, 24 μm 和 28.5 μm)，而其餘項目的差別不大。

根腐線蟲 *P. penetrans* 命名的模式地點 (type locality) 為美國紐約 Rhinebeck 地區 (New York, USA)，未記錄模式寄主 (type host) 的種類，只說明線蟲鑑定之樣本來自溫室土壤 (greenhouse soil)⁽¹⁴⁾。*P. penetrans* 的寄主植物已超過 350 種，包括草莓⁽²⁹⁾、馬鈴薯⁽³¹⁾ 及人參 (ginseng)^(13, 41) 等，主要發生於歐洲、北美洲及亞洲等世界各大洲的溫帶地區 (temperate areas)^(3, 14)。至於 *P. loosi* 的模式地點為斯里蘭卡 (Sri Lanka)，模式寄主為茶樹 (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)⁽³⁶⁾，其他發生地區和寄主植物包括日本的蘋果和柑桔⁽¹⁸⁾、印尼爪哇 (Java) 的咖啡樹⁽²⁸⁾ 及薩摩亞群島 (American Samoa) 地區的香蕉⁽¹⁾ 等。由國外文獻的記載，*P. penetrans* 的分佈地區及寄主植物的種類顯然皆較 *P. loosi* 為廣，但是截至目前，根據 Chen 等^(4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12) 和 Wu 等⁽⁴⁴⁾ 在台灣地區的線蟲調查鑑定研究，該 2 種根腐線蟲則僅分別在草莓和茶樹上發現。另依據早期 Huang 等 (1972)⁽²⁴⁾ 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.)，因此在未來有必要持續進行全面的採集鑑定研究，以確認 *P. penetrans* 和 *P. loosi* 在台

灣地區的分佈區域和寄主植物種類。

根腐線蟲 *P. penetrans* 和 *P. loosi* 雌蟲整體外觀和體型頗為近似，其最主要的差異在於頭唇部的體環數目和唇盤的構造，但該二項辨識的特徵在光學顯微鏡下皆不易觀察，因此未來如以傳統形態鑑定方法，進行台灣本島根腐線蟲的全面調查工作將曠日費時。在本研究中，已將 *P. penetrans* 和 *P. loosi* 的 rDNA 片段序列登錄於 GenBank 序列資料庫，而該序列片段包括完整 5.8S 基因和內轉錄區間 ITS-1 和 ITS-2，以及部分 18S 和 28S 基因的序列，可以成為該二種根腐線蟲的分子標誌 (molecular marker) 或生命條碼 (bar code of life)，提供全世界線蟲分類學者另一較為客觀的比對依據。另外，於具有較大序列差異的內轉錄序列區間，設計開發具種專一性的引子對 (species-specific primers)，利用 PCR 技術，以增幅特定大小的 rDNA 片段，結合單獨一隻線蟲基因體的萃取方法，未來將更能正確、簡便及快速地進行全國根腐線蟲種類調查鑑定工作。

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)

- Brooks, F. E. 2004. Plant-parasitic nematodes of banana in American Samoa. *Nematropica* 34: 65-72.
- 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
- 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.
- 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. 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.
- 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)
- Chen, D. Y., Ni, H. F., Chen, R. S., Yen, J. H., and Tsay, T. T. 2006. Identification of spiral nematode (Nematoda: Rotylenchinae) collected from Taiwan and Kinmen. *Plant Pathol. Bull.* 15: 153-169. (in Chinese with English abstract)
- 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)
- 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)
- Chen, D. Y., Ni, H. F., and Tsay, T. T. 2007. Identification of a new recorded stunt nematode *Tylenchorhynchus zae* (Nematoda: Belonolaimidae) in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 16: 79-86. (in Chinese with English abstract)
- Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., and Tsay, T. T. 2009. Identification of a new recorded root-lesion nematode *Pratylenchus zae* (Nematoda: Tylenchoidea, Pratylenchidae) from corn plantations in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 18: 111-118. (in Chinese with English abstract)
- Chen, D. Y., Ni, H. F., Yen, J. H., and Tsay, T. T. 2009. Identification of a new recorded pin nematode *Paratylenchus minutus* (Nematoda: Criconematoidea, Tylenchulidae) in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 18: 167-174.
- Chung, K. C., Park, S. D., Khan, Z., and Kim, B. J. 2004. A survey of plant parasitic nematodes associated with ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Korean J. Medicinal crop sci.* 12: 355-359.
- Corbett, D. C. M. 1973. *Pratylenchus penetrans*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 2, No. 25. Commonwealth Institute of Helminthology, St. Albans, England.
- De Luca, F., Fanelli, E., Di Vito, M., Reyes, A., and De Giorgi, C. 2004. Comparison of the sequences of the D3 expansion of the 26S ribosomal genes reveals

- different degrees of heterogeneity in different populations and species of *Pratylenchus* from the Mediterranean region. *Eur. J. Plant Pathol.* 110: 949-957.
16. 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.
 17. Frederick, J. J., and Tarjan, A. C. 1989. A compendium of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae). *Revue de Nématol.* 12: 243-256.
 18. Gotoh, A., and Oshima, Y. 1963. *Pratylenchus* species and their geographical distribution in Japan (Nematoda: Tylenchida). *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 7: 187-199.
 19. 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.
 20. 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.
 21. Hoste, H., Chilton, N. B., Beveridge, I., and Gasser, R. B. 1998. Differences in the first internal transcribed spacer of ribosomal DNA among five species of *Trichostrongylus*. *Int. J. Parasitol.* 28: 1251-1260.
 22. Hung, G. C., Chilton, N. B., Beveridge, I., McDonnell, A., Lichtenfels, J. R., and Gasser, R. B. 1997. Molecular delineation of *Cylicocyclus nassatus* and *C. ashworthi* (Nematoda: Strongylidae). *Int. J. Parasitol.* 27: 601-605.
 23. 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)
 24. 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)
 25. Huang, C. S., and Chiang, Y. C. 1976. *Pratylenchus coffeae* found in Taiwan citrus orchard. *Plant Prot. Bull.* 18: 75-78.
 26. 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)
 27. Inserra, R. N., Duncan, L. W., Dunn, D., Handoo, Z. A., Troccoli, A., and Rowe, J. 2005. *Pratylenchus jordanensis* a junior synonym of *P. zaeae*. *Nematropica* 35: 161-170.
 28. 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.
 29. LaMondia, J. A. 1999. The effects of *Pratylenchus penetrans* on strawberry vigor and yield. *J. Nematol.* 31: 418-423.
 30. 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.
 31. Morgan, G. D., MacGuidwin, A. E., Zhu, J., and Binning, L. K. 2002. Population dynamics and distribution of root lesion nematode (*Pratylenchus penetrans*) over a three-year potato crop rotation. *Agronomy J.* 94: 1146-1155.
 32. Nasmith, C. G., Speranzini, D., Jeng, R., and Hubbes, M. 1996. RFLP analysis of PCR amplified ITS and 26S ribosomal RNA genes of selected entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae). *J. Nematol.* 28:15-25.
 33. Newton, L. A., Chilton, N. B., Beveridge, I., and Gasser, R. B. 1998. Genetic evidence indicating that *Cooperia surnabada* and *Cooperia oncophora* are one species. *Int. J. Parasitol.* 28: 331-336.
 34. Powers, T. O., Todd, T. C., Burnell, A. M., Murray, P. C. B., Fleming, C. C., Szalanski, A. L., Adams, B. A. & Harris, T. S. 1997. The rDNA internal transcribed spacer region as a taxonomic marker for nematodes. *J. Nematol.* 29: 441-450.
 35. 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.
 36. Seinhorst, J. W. 1977. *Pratylenchus loosi*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 7, No. 98. Commonwealth Institute of Helminthology, St. Albans, England.
 37. Siddiqi, M. R. 2000. Tylenchida Parasites of Plants and Insects. 2nd edition. Wallingford, UK, CABI Publishing, 833 pp.
 38. 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

39. Toung, M. C. 1962. A preliminary survey of some parasitic nematodes in relation to citrus in Taiwan. Plant Prot. Bull. 4: 59-63.
40. Toung, M. C. 1963. Some parasitic nematodes associated with citrus in Taiwan. Plant Prot. Bull. 5: 17-22. (in Chinese with English abstract)
41. Vrain, T. C. 1993. Pathogenicity of *Pratylenchus penetrans* to American Ginseng (*Panax quinquefolium* L.) and to Kiwi (*Actinidia chinensis*). Can. J. Plant Sci. 73: 907-912.
42. 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.
43. Wang, L. C. 1970. A study on soil nematodes of tea plantation in Taiwan. Taiwan Agriculture 6: 126-151. (in Chinese with English abstract)
44. 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.^{1,6}, Ni, H. F.², Yen, J. H.³, Wu, W. S.⁴, and Tsay, T. T.⁵ 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 (¹Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan; ²Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI, Taiwan; ³Agricultural Extension Center, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; ⁴Department of Horticulture and Biotechnology, Chinese Culture University, Taipei, Taiwan; ⁵Department of Plant Pathology, NCHU, Taichung, Taiwan; ⁶Corresponding author, E-mail: Dychen@tari.gov.tw, Fax: +886-4-2330-2803)

Nine populations of *Pratylenchus* spp. have isolated by modified Baermann funnel method from the major production area of strawberry and tea crops in Taiwan since October, 2008. Comparisons of the morphology, morphometrics and ribosomal DNA fragment sequences, including full 5.8S gene, ITS-1, ITS-2 and partial 18S and 28S gene, 5 populations of nematode from strawberry were identified as *P. penetrans* (Cobb, 1917) Chitwood & Oteifa, 1952, the other 4 populations from tea were as *P. loosi* Loof, 1960. The lengths of representative sequences of rDNA fragment from *P. penetrans* and *P. loosi* was 916 bp and 1238 bp, respectively, with 80.9 % similarity to each other, and have been submitted to GenBank.

Key words: root-lesion nematode, identification, ribosomal DNA, *Pratylenchus penetrans*, *Pratylenchus loosi*