

山藥根腐線蟲不同接種方法之評估¹

倪蕙芳² 許淑麗² 楊宏仁^{2,3}

摘要

倪蕙芳、許淑麗、楊宏仁。2007。山藥根腐線蟲不同接種方法之評估。台灣農業研究 56:99-106。

根腐線蟲為台灣山藥主要線蟲病害之一，造成山藥嚴重損失，2001 年發現以來一直為山藥栽培之重要限制因子。本研究所調查之山藥含各地方栽培品種，其中來自中埔之地方種原生-2、山藥台農五號（中埔紅龍）、甲仙、玉井、杉林、梅山地方品種、陽明山白皮白肉種、大汕、紫玉血薯、名間長紅等田間所栽培之薯塊即已發現遭根腐線蟲感染。為調查不同山藥對根腐線蟲之抗感病性，本研究同時比較山藥根腐線蟲三種人工接種方式，結果顯示直接利用山藥之病薯皮切碎或進一步打成汁液後進行接種試驗時，較以分離之線蟲懸浮液進行接種者可以在短時間內增加根腐線蟲族群，從而縮短品種或品系間抗感病性試驗之時間。同時以病薯皮接種較將病薯皮打成汁液或分離線蟲懸浮液方便許多，可應用在未來大規模篩選山藥抗根腐線蟲之試驗及其它內寄生潛移性線蟲研究之參考。

關鍵詞：接種方法、根腐線蟲、山藥。

前言

山藥 (Yam, *Dioscorea* spp.) 為薯蕷科 (Dioscoreaceae) 之蔓性塊莖類作物，其地下部之塊莖部位為主要之食用及藥用之所在。山藥主要分佈在熱帶地區，其中以中南美洲為最多，次為東南亞及非洲，全世界至少有 600 個種 (Kung *et al.* 1999)。在台灣薯蕷屬植物有 14 個種及 4 個變種 (Liu *et al.* 1996)。

山藥栽培所面臨之線蟲病害問題，國外有記載者主要為山藥螺旋線蟲 (Yam nematode, *Scutellonema bradys* Steiner & LeHew, 1933) 所引起之山藥乾腐病 (dry rot disease) (Baimey *et al.* 2005; Kwoseh *et al.* 2002; Luc *et al.* 2005; Siddiqi 1972)，此病害在國外主要栽培地區普遍發生，對山藥之栽培有極大的影響，而台灣是少數沒有此種線蟲分佈之地區 (Tsay 1995)，但卻面臨南方根腐線蟲 (*Pratylenchus coffeae* Zimmermann, 1898) 的嚴重威脅；根腐線蟲為植物內寄生潛移性線蟲，寄生範圍很廣，在台灣一些常見之糧食作物、特用作物、蔬菜、果樹、花卉、樹木等共計 88 種作物以上曾於根圈土壤中發現根腐線蟲之存在 (Wu 1998)，依據 Tsay (1996) 十餘年來調查主要蔬菜、花卉、果樹、根莖薯類及特用作物，發現南方根腐線蟲是引起作物連作障害之重要因子之一。而此線蟲在台灣對山藥造成之危害則於 2001 後才陸續被發現，並經中興大學蔡東纂教授鑑定為南方根腐線蟲 (*P. coffeae*) (Lin 2006)。本病害主要發生於連作 2 至 3 年後的山藥田，近年由於栽培制度

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2286 號。接受日期：2007 年 5 月 1 日。
2. 本所嘉義分所植保系助理研究員、研究助理與副研究員兼系主任。
3. 通訊作者，電子郵件：yhr@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05) 2766019。

趨於棚架及有機栽培，因此無法輪作或用藥，以致本病害發生嚴重。由根腐線蟲所引起之山藥塊莖表面有許多深淺不一之裂痕、裂口有木栓化情形、以手指輕壓會有海棉狀之感覺，其橫切面自表皮往內層呈現黑褐色乾腐，乾腐之深度隨山藥品種之不同會有些微之差異。山藥根腐線蟲之傳播方式主要是由種薯帶原傳播，由於南方根腐線蟲會於採收後的山藥塊莖內繼續存活及繁殖，因此種薯成爲此線蟲蔓延及遠距傳播之重要因子，另外田間土壤中殘存之線蟲亦爲山藥感染根腐線蟲之重要因子，目前本病之防治方式與其它植物病原線蟲防治方式大同小異，主要爲進行輪作、淹水或休耕、種植清潔種苗、種薯溫水處理、栽植抗病或耐病品種及應用化學藥劑等 (Tsay 1996)，其中在兼顧山藥產量及品質的條件下，選擇對根腐線蟲具有抗病或耐病的品種是最簡單經濟的方法，在波多黎各 (Puerto Rico) 當地，*D. alata* cv Florido 被認爲是對 *P. coffeae* 和 *S. bradys* 頗具有抗性之品系 (Ayala and Acosta 1971)。台灣地區具有許多質優高產之品系，然其對山藥根腐線蟲之抗感病性仍有待評估。

本研究乃爲在進行山藥不同品系抗根腐線蟲篩選時，評估其人工接種時，何種根腐線蟲之接種方式最爲省時與恰當，一般線蟲之接種源不外乎來自病土、感染之植物組織、罹病組織進一步分離之線蟲懸浮液等幾種方式，不同之接種方式可能由於線蟲殘存及繁殖會導致不同的感染程度，進而影響試驗之時間及結果，因此本研究擬就三種根腐線蟲接種於山藥之方式，進行評估其於植株上之繁殖差異性及其對植株生長之影響，以爲未來相關山藥根腐線蟲試驗研究之參考。

材料與方法

山藥根腐線蟲之分離

由台灣各地收集各種山藥地方栽培種或已知之品種，調查其罹線蟲病害之情形，另外挑取外觀或切面具有顯著根腐線蟲感染病徵之山藥，削其薯皮稱重後，利用改良式柏門氏漏斗法，分離其每克薯皮中之線蟲量，並將薯塊切面進行病徵照相。

山藥之栽培

本試驗以山藥台農五號 (紅龍) 及大汕種作爲測試之山藥，將此兩種山藥之薯塊以溫水處理殺滅可能存在之線蟲後，切成約 3×3 cm 小塊進行催芽，將所得到之幼苗定植於內含栽培土壤 (土：砂：泥炭土=1:1:1)，內徑 26 cm、高度 33 cm 的盆鉢中，置於溫室中培養。

根腐線蟲之來源及接種方式

根腐線蟲之來源主要來自中埔地區之台農 5 號 (紅龍) 山藥薯塊，採集罹患根腐線蟲之病薯，削下薯皮切成約 0.5×0.5 cm 小塊，將其混合均勻，以改良式柏門氏漏斗分離方法測出每 20 g 薯塊皮所含之線蟲量。本試驗中所製備之病薯皮平均每公克薯皮含有 134 隻根腐線蟲；定量接種含 1000 隻線蟲之薯皮 (病薯皮約需 7.5 g) 於已栽植山藥之盆鉢內，此爲本研究第一種線蟲接種方式。第二種線蟲接種方式則爲將柏門氏漏斗分離之線蟲懸浮液直接定量 1000 隻線蟲接種於盆鉢中，此爲一般線蟲接種常用之方法。第三種方式爲將定量 1000 隻線蟲之病薯皮 (病薯皮約需 7.5 g) 以果汁機瞬間打碎後再接種於山藥盆鉢中。本試驗每處理 5 重覆。

調查

不同方式接種線蟲後之山藥植株於接種後第 1、3、5、7 個月分別調查 100 g 土壤中線蟲之密度，並於第 7 個月，山藥落葉後，調查土壤線蟲密度外，一併調查結薯重、薯周徑、薯皮含根腐線蟲之量，並進行薯塊之照相。

結果

本研究收集各地栽培之山藥品種中，中埔之地方種原生-2、甲仙、玉井、杉林、梅山地方品種、陽明山白皮白肉種、大汕、紫玉血薯等所收集來之薯塊皆感染根腐線蟲。山藥根腐線蟲感染山藥後會因品種不同，病徵上有所差異，本研究所收集之不同種山藥感染根腐線蟲之病徵如圖 1 所示。以山藥台農五號（紅龍）而言，薯皮塊莖上會有深淺不一之裂口，裂口處會有黑褐色腐敗組織裸露而呈木栓化情形，定量每公克表皮含量有高達 7,480 隻線蟲者、另外名間長紅山藥病薯之蟲量可達每公克薯皮 3278 隻，而中埔原生 3 地方栽培種山藥約為每公克病薯皮 826 隻線蟲。

本試驗以感染線蟲之山藥薯皮、線蟲懸浮液及經果汁機打碎之感染線蟲薯皮三種方式分別接種於山藥植株後調查其對山藥感染線蟲之影響，並於接種後不同時間進行土壤線蟲量之計數，結果發現以山藥台農五號（紅龍）而言，其利用病薯皮或病薯皮打汁接種山藥後第三個月時，其土壤內之線蟲量已分別達每百克土壤 2,984 及 1,724 隻線蟲，而利用線蟲懸浮液做為接種源者其土壤線蟲量僅有每百克土壤約 80.8 隻左右。接種後第五個月，利用病薯皮及病薯皮打汁接種山藥者，其土壤內之線蟲量則分別為每百克土壤 1,968 及 2,818 隻線蟲，而利用線蟲懸浮液做為接種源者其土壤線蟲量僅每百克土壤約 570 隻左右（圖 2），接種線蟲懸浮液者須至接種後七個月後，土壤之根腐線蟲量



圖 1. 不同品種之山藥塊莖被根腐線蟲侵染後之病徵：(A) 嘉義市場購買之山藥 (B) 台農五號（紅龍）；(C) 名間長紅；(D) 嘉義原生。

Fig. 1. Disease symptoms of tubers of different yam cultivars attacked by *Pratylenchus coffeae*. (A) Yam from Chiayi market; (B) Tainung No.5 (Hong Long); (C) Ming Jian Chang Hong, and (D) Chiayi local cultivar.

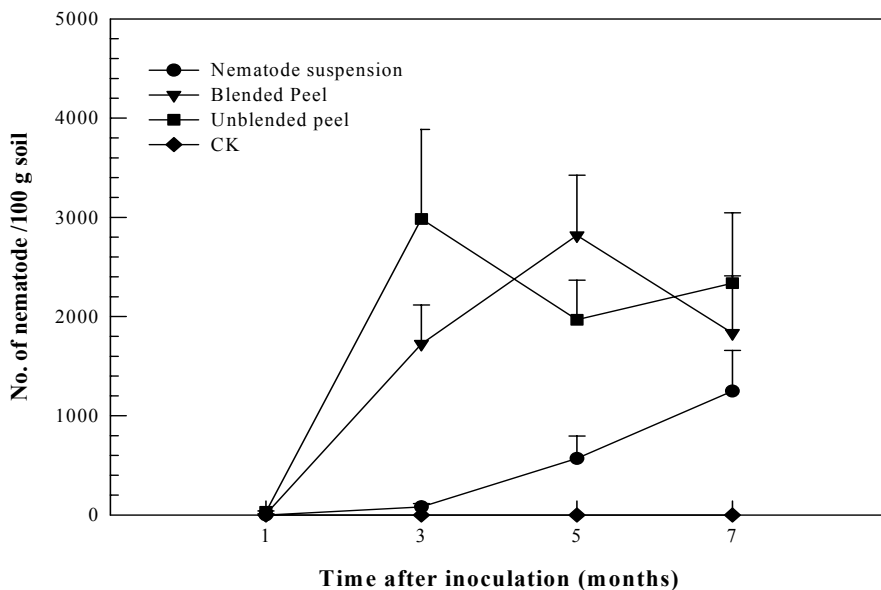


圖 2. 不同接種方式對根腐線蟲在台農 5 號（紅龍）山藥塊莖內繁殖之影響。
 Fig. 2. Effect of different inoculation methods on multiplication of *Pratylenchus coffeae* in the tubers of Tainung No.5 (Hong Long) yam inoculated with 1000 nematodes per plant.

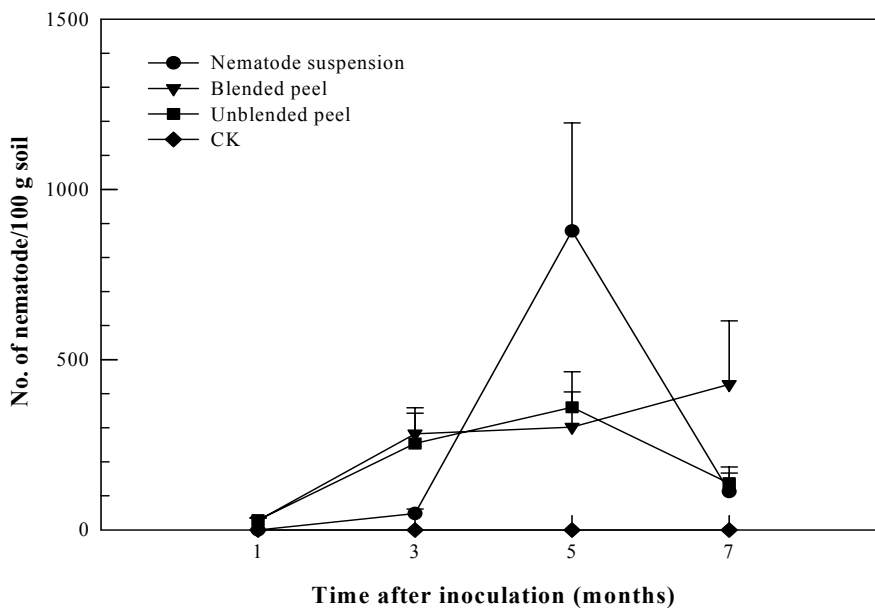


圖 3. 不同接種方式對根腐線蟲在大汕山藥內繁殖速率之影響。
 Fig. 3. Effect of different inoculation methods on multiplication of *Pratylenchus coffeae* in the tubers of Dai Shan yam inoculated with 1,000 nematodes per plant.

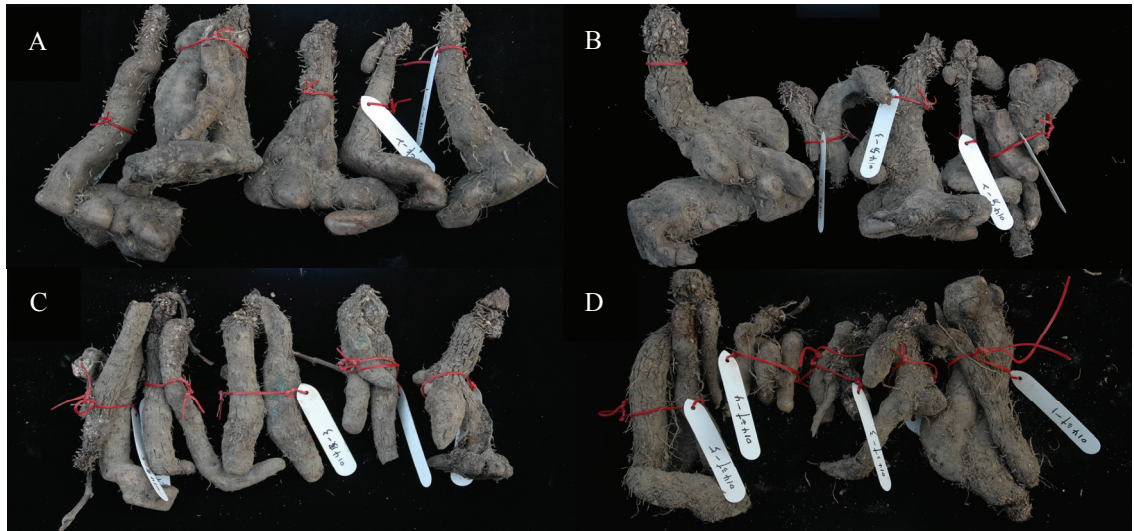


圖 4. 不同接種方式對台農五號（紅龍）山藥感染根腐線蟲後結薯之影響：(A) 未接種線蟲之對照組；(B) 接種線蟲懸浮液；(C) 接種病薯皮；(D) 接種病薯皮汁液。

Fig. 4. Effect of different inoculation methods on tuberization of Tainung No.5 (Hong Long) yam. (A) non-inoculation as control; (B) inoculated with nematode suspension; (C) inoculated with unblended diseased peels; (D) inoculated with blended diseased peel suspension.

方急遽攀升。然若以大汕品種而言，同樣在接種後 3 個月，利用病薯皮及病薯皮打汁做為接種源之山藥，其土壤內之根腐線蟲量已分別達每百克土壤 254 及 282 隻，較線蟲懸浮液接種者，每百克土壤僅有 48 隻線蟲者顯著增加許多，於接種 5 個月時則三種接種方式對線蟲之繁殖量已無顯著差異（圖 3）。於接種後七個月時，除了調查線蟲之繁殖量，並一併採收薯塊調查薯皮之線蟲量、薯重及薯周徑，結果顯示，不同接種方式對紅龍及大汕山藥之薯皮內線蟲繁殖量已無顯著差異，然而對於紅龍山藥接種病薯皮之處理則發現薯的周徑顯著低於其它兩種利用病薯皮打汁及線蟲懸浮液接種之處理，至於在薯重、薯數則無顯著差異；另外在大汕之接種分析上則是不同接種方式對薯周徑、薯重、薯數在統計上均無顯著差異（表 1），然若由圖 4 所示，以紅龍山藥而言，利用病薯皮進行接種，五重複所得之山藥薯塊大小較為均一，不若以病薯皮打汁或以分離蟲接種者重複間差異極大。

討 論

進行植物病理學相關探討時，正確且方便的接種方式一直是試驗重要之前題。尤其在進行植物寄生性線蟲試驗時，如何確保土壤中的接種源能在死亡之前順利感染植株確實是一道難題。以本研究所探討之山藥根腐線蟲為一植物內寄生潛移性線蟲，其以山藥之根系及薯塊為主食，線蟲在土壤中之族群量常為線蟲是否繁殖及感染植物之指標。為探討山藥品種系間對此線蟲之抗性，以及未來抗病育種之材料，篩選較佳且方便之接種方式有其必要性，為此吾人嘗試以感染根腐線蟲之病薯皮切碎後直接做為接種源，結果發現此種接種源方式不論在山藥台農五號（紅龍）或大汕種山藥上，

表 1. 不同根腐線蟲接種方式對台農 5 號 (Hong Long) 山藥及大汕 (Da Shan) 山藥生長之影響

Table 1. Comparison of growth of Hong Long and Dai Shan yam cultivars inoculated with *Pratylenchus coffeae* under different methods in the greenhouse 7 months after planting

Inoculation method ^z	Tuber circumference (cm)		Number of tubers/plant		Tuber weight (g/plant)	
	Da Shan	Hong Long	Da Shan	Hong Long	Da Shan	Hong Long
Control	16.5 a	19.14 a	1.2 b	1.6 a	260 a	371 a
Nematode suspension	11.3 b	15.3 ab	1.4 b	1.6 a	191 ab	331 a
Blended peels	10.2 b	10.5 bc	1.2 b	2.6 a	92 b	172 a
Unblended peels	12.2 b	8.7 c	2.0 a	1.8 a	187 ab	128 a

^z Each pot soil was inoculated with about 1000 nematodes mixed of juveniles and adults.

均可以於接種後三個月使線蟲在土壤中之族群量分別達每百克土壤 3,000 隻及 250 隻左右的數量，而若將病薯皮打成汁液讓其線蟲易於游動出來再做為接種源者，其土壤內線蟲之數量與上述以病薯皮接種者並無顯著差異，反之，若將病薯皮切碎後再經柏門氏漏斗分離法將線蟲分離出來，再將其定量接種於山藥，則發現土壤中之線蟲量相當低，每百克土壤僅 80 隻及 50 隻左右，與前兩者接種方式相比較，顯然利用分離線蟲做為接種源對於此線蟲之繁殖較為不利，推測其原因，可能是病薯皮內之線蟲，由於仍有少量之薯皮做為底護，可以有較充裕的時間和食物維持生命以尋找新的寄主來源，而分離線蟲接種於土壤中隨即面對食物及環境之壓力，因此必需在短時間內即侵入山藥，否則必定會造成分離蟲在土壤中較大之死亡率，因此雖然定量 1,000 隻之線蟲接種於土壤中，最後成功侵染之線蟲量必遠低於此接種量，使得線蟲之繁殖必需耗費較長之時間方能達到一定之數量，因此於接種五個月後，土壤內之線蟲量繁殖狀況仍顯著不及以病薯皮接種者，此結果與國外在研討 *Scutellonema bradys* 侵染山藥時有關接種方式之探討結果是一致的 (Baimey *et al.* 2005)。唯一不同的是根腐線蟲之線蟲懸浮液接種在山藥上之族群於接種後七個月調查時，其線蟲量能達到與病薯皮或薯皮汁液接種時無差異，而在 *S. bradys* 試驗中，山藥於接種線蟲懸浮液 9 個月，其繁殖量仍很低 (Baimey *et al.* 2005)，究其原因，可能由於 *S. bradys* 與 *P. coffeae* 在不同品種山藥上之增殖速度不同有關，而大汕山藥及紅龍山藥分別接線蟲懸浮液 5 及 7 個月後，土壤中線蟲量有急劇攀升之情形，其原因則可能由於利用病薯皮或病薯汁液接種者，由於在接種後 3 個月線蟲量即已大量繁殖導致山藥結薯不理想，影響線蟲後期以薯塊做為食物之來源，反之利用線蟲懸浮液做為接種源者，接種後線蟲繁殖雖較低，然而當山藥結薯時，線蟲食物來源驟增，可能為導致線蟲迅速繁殖之原因，另外由研究結果顯示根腐線蟲在紅龍及大汕山藥之繁殖有極大之差異，顯示在對根腐線蟲之感病性而言，紅龍是較大汕感病的品種，此與筆者實際田間觀察之結果相吻合。

綜合言之，利用病薯皮及病薯皮汁液直接進行根腐線蟲之接種可以有效縮短試驗之時間，可以在接種後 3 個月，即可初步了解線蟲在山藥感染之情形，不需等待山藥漫長之生長結薯後再進行評估，於未來進行山藥抗線蟲病害篩選時，可做為相關試驗之參考。

引用文獻 (Literature cited)

- Ayala, A. and N. Acosta. 1971. Observations on yam (*Dioscorea alata*) nematodes. *Nematropica* 1:39-40.
- Baimey, H., D. Coyne, and N. Labuschagne. 2005. Assessment of inoculation methods in evaluating response of yam cultivars to infection by *Scutellonema bradys*. *Nematology* 73:375-379.
- Kung, T. L., S. T. Wu, and F. S. Thseng. 1999. Variation of plant characteristics of wild yam *Dioscorea pseudojaponica* and *D. doryophora* in Taiwan. *Bull Taoyuan Dist. Agric. Impro. Sta. No. 37*:1-13. (in Chinese with English abstract)
- Kwoseh, C., R. A. Plowright, and J. Bridge. 2002. The yam nematode: *Scutellonema bradys*. P.221-228. *In: Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. CABI publishing. NewYork. 258 pp.
- Lin, G. C. 2006. The Occurrence, Identification and Quarantine Control of Yam Nematode Diseases in Taiwan. Department of Plant Pathology. National Chung Hsing University. Master Thesis. Taichung, Taiwan. 61 pp. (in Chinese with English abstract)
- Liu, S. Y., J. Y. Wang, Y. T. Shyu, M. F. Hu, H. R. Yang, and C. C. Ho. 1996. The development of yam new variety Tainung No. 2. *J. Agric. Res. China* 45:260-284. (in Chinese with English abstract)
- Luc, M., R. A. Sikora, and J. Bridges. 2005. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB International. Wallingford, Oxon, UK. 629 pp.
- Tsay, T. T. 1995. Quarantine of plant-parasitic nematodes. *Plant Pathol. Bull.* 4:43-59. (in Chinese with English abstract)
- Tsay, T. T. 1996. Occurrence and control strategies of crop soil sickness due to plant parasitic nematodes. *Plant Pathol. Bull.* 5:113-128. (in Chinese with English abstract)
- Wu, H. S. 1998. Identification, Distribution and Ecology of *Pratylenchus* spp. in Taiwan. Department of Plant Pathology. National Chung Hsing University. Master Thesis. Taichung, Taiwan. 87 pp. (in Chinese with English abstract)
- Siddiqi, M. R. 1972. *Scutellonema bradys*. C I H Description of Plant Parasitic Nematodes, Set 1, No. 10. Commonwealth Institute of Helminthology Pub. st. Albans, Herts, England. 2 pp.

Evaluation of Different Method for Inoculation for *Pratylenchus coffeae* on Yam¹

Hui-Fang Ni², Shu-Li Hsu² and Hong-Ren Yang^{2,3}

Abstract

Ni, H. F., S. L. Hsu, and H. R. Yang. 2007. Evaluation of different inoculation methods for *Pratylenchus coffeae* on Yam. J. Taiwan Agric. Res. 56:99-106.

The root-lesion nematode *Pratylenchus coffeae* first appeared on yams in Taiwan in 2001 and the disease has become an important limiting factor for yams production since that on. According to our field survey, the nematode attacked many yam cultivars, including Zhoung-Pu-Yuan-Sheng-line 2, Tainung No. 5 (Hong Long), Yang Ming Shan bai-pi-bai-rou, Da Shan, Zih-Yu-Xie-Shu, and Min-Jian-Chang-Hong, as well as several local varieties of Jia Sian, Yu Jing, Shan Lin and Mei Shan. In order to select a suitable method for root nematode inoculation study, three different methods were tested and evaluated. The inoculation sources used in the three methods were nematode suspension, nematode infested yam peels, nematode infested yam peel suspension. Results showed that both methods by inoculating seedlings with nematode-infested diseased-tuber peels or blended diseased peel suspension were better than the method using nematode suspension as inoculum. The population densities of *P. coffeae* in the tubers of yam Tainung No.5 and Da Shan in the former two treatments were much higher than the latter treatment 3 months after inoculation. Furthermore, inoculation with unblended diseased tuber peels is more convenient and less time consuming than the other two methods. Therefore, the diseased peel inoculation method is suitable for use in screen of yam cultivars resistant to root nematodes and other inoculation studies.

Key words: Inoculation method, Root-lesion nematode (*Pratylenchus coffeae*), Yams.

1. Contribution No.2286 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: May 1, 2007.

2. Respectively, Assistant Researcher, Assistant, and Associate Researcher and chairperson of Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Station, ARI, Chiayi, Taiwan, ROC.

3. Corresponding author, e-mail:yhr@dns.caes.gov.tw; Fax : (05)2766019.