

應用試管培養方式評估根腐線蟲在山藥內之繁殖能力¹

倪蕙芳² 賴素玉² 許淑麗² 張淑芬³ 楊宏仁^{4,5}

摘要

倪蕙芳、賴素玉、許淑麗、張淑芬、楊宏仁。2010。應用試管培養方式評估根腐線蟲在山藥內之繁殖能力。台灣農業研究 59:42-48。

本研究利用試管培養方式評估根腐線蟲 (*Pratylenchus coffeae*) 在不同山藥品系之繁殖能力。將無菌培養於胡蘿蔔塊根癒傷組織之根腐線蟲母蟲，分別接種於台農 5 號、中埔 018 及杉林 067 三種山藥品系之試管中，置於 25°C 定溫箱每日 12 小時光照處理 15 週後，測定試管內山藥根系及培養基上線蟲之數量。結果顯示，根腐線蟲在台農 5 號山藥的繁殖量最高，可達每試管 8163 隻，唯在杉林 067 品系則每試管僅有 1551 隻，兩者間具有顯著性差異。此結果與利用溫室盆鉢栽培進行根腐線蟲繁殖量測定時所得之結果一致，顯示未來可應用試管培養方式比較根腐線蟲在不同品種 (系) 山藥間之繁殖能力。

關鍵詞：山藥、根腐線蟲、繁殖能力、試管培養。

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可為食用或藥用，依品種特性而有不同。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)，在台灣薯蕷屬植物則有 14 個種及 5 個變種 (Liu *et al.* 1996)。

台灣山藥之病蟲害問題，依栽培品種之不同而有相當大之差異性，地上部病害以由 *Colletotrichum gloeosporioides* 引起之葉部及莖部炭疽病為主，嚴重時會造成植物之地上部枯

死 (Liu *et al.* 1992; Liu *et al.* 1996)。而地下部病害則以根腐線蟲 (*Pratylenchus coffeae*) (Zimmermann 1898; Filipjev & Schuurmans Stekhoven 1941) 造成之塊莖乾腐病及由根瘤線蟲 (*Meloidogyne* spp.) 造成之塊莖根瘤病兩者為主 (Lin 2006)，此兩種線蟲所造成之病害嚴重度則又依栽培地區土壤性質及品種之差異性而有顯著之不同。根腐線蟲為普遍存在熱帶及亞熱帶地區之植物內寄生性 (endoparasitic) 線蟲，台灣之氣候型態相當適合此一線蟲之繁衍。此種線蟲主要刺食寄主植物地下部之幼嫩根尖，侵入皮層細胞繁殖、潛移，造成根部細胞腐爛死亡，嚴重影響植株生長。根腐線蟲一

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2397 號。接受日期：99 年 3 月 17 日。
2. 本所嘉義分所植物保護系副研究員兼系主任、研究助理、研究助理。台灣 嘉義市。
3. 本所嘉義分所園藝系助理研究員。台灣 嘉義市。
4. 本所嘉義分所研究員兼分所長。台灣 嘉義市。
5. 通訊作者，電子郵件：yhr@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05)2764525。

且侵染山藥塊莖時，會引起山藥塊莖表面深淺不一之裂痕，且裂口會有木栓化情形、以手指輕壓會有海棉狀之感覺，其橫切面自表皮往內層會有黑褐色乾腐，乾腐之深度隨山藥品種之不同會有些微之差異。根腐線蟲在田間之傳播方式主要是由種薯帶原傳播，由於此一線蟲會於採收後的山藥塊莖內繼續存活及繁殖，筆者曾經於染病山藥塊莖皮上分離到每公克含有 5000 隻以上之根腐線蟲，因此種薯即可能成為此種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，亦可能為山藥感染根腐線蟲之重要因子。目前本病害之防治在農業試驗所嘉義分所所發展之溫水處理種薯及健康種薯繁殖技術推動下，此病害於田間發生之比率已明顯下降，縱然如此，病害之防治策略仍需多方向進行。

抗病育種是線蟲病害防治的重要方式之一，在波多黎各 (Puerto Rico)，*D. alata* cv. Florido 山藥即被認為是當地對根腐線蟲頗具有抗性之品系 (Siddiqi 1972)；而在田間亦觀察到山藥品種間對此一線蟲之抗感性確實存有極大之差異性，台灣地區具有許多質優高產之品系，值得進一步評估其對根腐線蟲之抗感病性。然而目前面臨之問題在於山藥為一年一收之作物，且田間病原線蟲分佈相當不均勻，所以在進行抗病品種之篩選時，若將所有品系全數於田間進行，將非常耗費時間與人力，因此發展快速而有效之抗病篩選方式實有其必要性。過去已有許多研究利用生體外 (*in vitro*) 篩選方式，進行抗真菌、細菌、線蟲及昆蟲之篩選 (Kang *et al.* 1997; Hidalgo *et al.* 1999; Darling *et al.* 2000)；而有關利用生體外培養技術篩選線蟲在寄主上繁殖能力之報告，已有利用番茄根培養篩選對根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita acrita*, *M. hapla*) 之抗性 (Dropkin & Boone 1996; Dropkin & Webb 1967)、以大豆根培養篩選對胞囊線蟲 (*Heterodera glycines*) 之抗性

(Lauritis *et al.* 1982) 以及利用香蕉之組培探討其品種間對穿孔線蟲 (*Radopholus similis*) 之抗性研究 (Elsen *et al.* 2002)。本研究擬利用生體外試管培養方式，進行根腐線蟲在不同山藥品種或品系之繁殖力評估，並比較根腐線蟲在山藥試管培養內及溫室山藥盆栽接種試驗結果，藉以驗證此一方法之可靠性，初步瞭解根腐線蟲在山藥品系或品種之繁殖力差異。

材料與方法

山藥組織培養

取約 2.5 cm 之山藥莖節以無菌水漂洗後，浸入 75%酒精，消毒 1 分鐘後，再以 1%次氯酸鈉 (NaClO) 消毒 20 分鐘，取出於 23%亞托敏 (Azoxystrobin) 水懸劑 250 倍稀釋液中浸泡 1 小時，取出以無菌水清洗 3-4 次後，將莖節置於含 3%蔗糖之 MS (Murashige & Skoog 1962) 培養基 (pH 5.7 ± 0.1) 斜面中，置於 25°C 定溫箱，約經 2 個月新根長出後備用。

根腐線蟲之培養

胡蘿蔔癒傷組織的製備：將自市場購買的胡蘿蔔，以 0.5%漂白水浸漬 20 分鐘進行表面殺菌。於無菌操作台中，以過火殺菌後水果刀，橫向切取 0.5 cm 的薄片，再以直徑 0.8 cm 的打孔器挖取含維管束形成層的胡蘿蔔圓盤，置入裝有 B5 培養基 (Gamborg's B5 medium) (Gamborg *et al.* 1968) 的試管斜面上，置於 25°C 下，無照光培養，待長出癒傷組織後備用。

根腐線蟲的表面消毒與培養：將感染根腐線蟲的山藥薯皮組織切成薄片，以改良式柏門氏漏斗分離法分離線蟲。於無菌操作台內，利用顯微鏡操作技術，以拉細的玻璃管吸取 50 隻線蟲母蟲，置入含 0.1%孔雀綠 (Malachite green) 殺真菌劑及 0.5%鏈黴素 (Streptomycin sulfate) 殺細菌劑之液體中處理 10 分鐘，再以無菌水漂洗 3 次，最後將消毒完成之蟲體注入已長出胡蘿蔔癒傷組織的試管中，進行無菌培

養以大量繁殖線蟲 (Peng & Moens 1999)。

根腐線蟲在試管培養山藥之繁殖測定

將上述無菌培養之根腐線蟲於解剖顯微鏡下挑取 50 隻母蟲接種於經試管培養已長出植株之山藥台農 5 號 (Tainung No.5)、中埔地方品系 018 (Chungpu 018) 及杉林地方品系 067 (Shanlin 067) 之試管中，接種 15 週後將山藥根系切成根段，待線蟲游出後計算根段中根腐線蟲之繁殖數量。另將培養基倒出，以改良式柏門氏漏斗分離法，計算其在培養基中之線蟲數，藉此觀察根腐線蟲在山藥試管培養根系中及培養基內之繁殖情形，每處理 10 重複。各處理線蟲數經資料轉換後進行顯著性測驗，若達顯著水準，則以費雪最小顯著差異測驗法 (Fisher's Least Significance Test, LSD) 測定 1% 及 5% 顯著差異。

根腐線蟲在溫室盆鉢山藥之繁殖力測定

將上述品種系之健康山藥薯塊催芽 1 個月後，分別種植於含田土：河砂：泥炭土 = 1:1:1 之盆鉢 (內徑 21 cm)，待其植株生長 3 週後接種山藥病薯皮。

接種當天，先將罹病山藥之薯皮切碎並充

分混合均勻後稱取 20 g 三重複，以改良式柏門氏漏斗分離法分離線蟲，其餘病薯薯皮保濕備用，4 小時後計算平均線蟲數，換算約含 1000 隻根腐線蟲所需山藥病薯薯皮之量，接種在山藥根群周圍。

於接種後 7 個月調查盆栽每百克土壤中線蟲之含量 (Ni *et al.* 2007)，每處理 5 重複。各處理線蟲數經資料轉換後進行顯著性測驗，若達顯著水準，則進行費雪最小顯著差異測驗法 (Fisher's Least Significance Test, LSD) 測定 1% 及 5% 顯著差異。

結 果

山藥組織培養及根腐線蟲生體外培養

利用 MS 培養基，切取山藥 Tainung No.5 莖節進行山藥之試管內培養，經培養 60 天後，山藥植株在試管內可以順利生長出根系及葉片 (圖 1A)。另外在根腐線蟲之無菌生體外培養，經蟲體表面消毒之線蟲接種於胡蘿蔔圓盤癒傷組織後，根腐線蟲感染癒傷組織造成癒傷組織褐化 (圖 1B)；當繁殖量較多時，可在試管壁上觀察到大量蟲體存在。

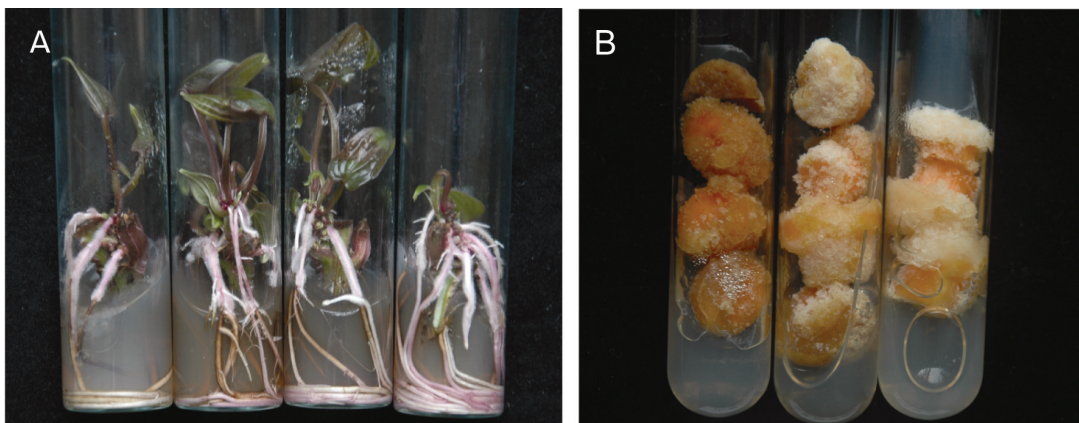


圖 1. 山藥台農 5 號及根腐線蟲之試管培養。(A) 台農 5 號山藥於 B5 培養基中培養 2 個月；(B) 根腐線蟲培養於胡蘿蔔癒傷組織。

Fig. 1. *In vitro* cultures of yam cv. Tainung No.5 on B5 medium for 2 months (A) and *Pratylenchus coffeae* on calli of carrot (B).

根腐線蟲在不同品種山藥試管培養之繁殖力測定

利用山藥 Tainung No.5、Chungpu 018 及 Shanlin 067 進行試管培養再進行根腐線蟲抗性篩選。Tainung No.5 山藥，線蟲接種 15 週後在試管內可以繁殖為原接種量之 163 倍；而 Shanlin 067 山藥，線蟲僅繁殖為原來的 31 倍，與線蟲在 Tainung No.5 山藥之繁殖量具有顯著性差異 ($P < 0.05$) (表 1)。而 Chungpu 018 山藥其線蟲平均繁殖量雖次於 Tainung No.5 山藥，為原線蟲接種量的 95.5 倍，但是在統計上線蟲在 Tainung No.5 山藥及 Chungpu 018 山藥之繁殖量並無顯著差異。

根腐線蟲在溫室盆鉢栽培之不同山藥品種之繁殖力測定

線蟲接種於溫室盆鉢栽培的不同山藥品種中，結果顯示，根腐線蟲在 Chungpu 018 山藥內之繁殖量為每百克土壤 3236 隻，而在 Shanlin 067 山藥之繁殖量最低，每百克土壤線蟲量平均僅為 1642 隻，但 Tainung No.5 山藥之繁殖量最高，達每百克土壤平均 7242 隻根腐線蟲，線蟲在此 3 種不同之品種系山藥中其繁殖量具有顯著性差異 ($P < 0.05$) (表 2)。

討 論

山藥在臺灣之栽培受限於地下部根腐線蟲之影響，常造成農友相當大之損失，也使得山

藥塊莖的儲藏受到極大之限制性，目前並未推薦殺線蟲劑之施用，利用中興大學蔡東纂教授發展之 LT-M 有機添加物置於山藥穴管中亦為一可行之非農藥防治方式，然其缺點為其成本較高。農試所嘉義分所利用健康種苗及田間衛生，則能經濟有效解決線蟲為害。但根本解決之道是育成對根腐線蟲具有抗性、栽培性狀良好之山藥品種，然而進行植物對根腐線蟲之抗性篩選工作並不容易，主要該線蟲於田間分佈之密度並不均一，且線蟲活力不易掌握。為此，本研究於試管培養情形下，模擬根腐線蟲與寄主植物之交互作用，先評估其在山藥之繁殖力。本研究在利用山藥試管培養進行根腐線蟲之繁殖測定時，首先需克服線蟲無菌培養及山藥試管培養兩大問題。根腐線蟲之無菌培養參照 Stoffelen *et al.* (1999) 與 Peng & Moens (1999) 所發展之根腐線蟲 *P. penetrans* 表面消毒方式，將由山藥分離之根腐線蟲置於孔雀綠和鏈黴素之液體中處理 10 分鐘，確實可以大幅度減低無菌培養試管之污染機率，較易成功繁殖無雜菌污染之線蟲，以利後續試驗之所需。另外山藥之試管培養，最好以生長旺盛期之山藥莖節進行，且必需先使用亞托敏殺真菌劑浸泡莖節去除莖節內外之真菌，以減少試管內污染之發生，若只用次氯酸鈉消毒，其污染率仍非常高，其原因可能在於

表 1. 根腐線蟲在 3 個不同品種之山藥生體外試管培養中繁殖之差異

Table 1. Reproduction of *Pratylenchus coffeae* on three yam varieties grown under *in vitro* conditions

Yam variety or line	Roots				Medium				P_f^y	R_f^x
	Juveniles	Females	Males	Total	Juveniles	Females	Males	Total		
cv. Tainung No.5	2336 a ^z	960 a	510 a	3806 a	3845 a	296 a	216 a	4357 a	8163 a	163.3
Line Chungpu 018	1436 a	305 a	276 a	2017 a	2285 a	243c	231ab	2759 a	4776 a	95.5
Line Shanlin 067	296 b	74 b	116 b	486 b	853 b	121 b	91 b	1065 b	1551 b	31.0

^z Data were log (x + 1) transformed prior to statistical analysis. Means within the same column followed by the same letter do not significantly differ according to the LSD test ($P < 0.05$).

^y final population of *P. coffeae* in roots and medium.

^x $R_f = P_f/P_i$ (with $P_i = 50$ females).

表 2. 根腐線蟲在溫室盆鉢栽培之 3 種山藥根系中之繁殖差異

Table 2. Reproduction of *P. coffeae* on roots of three yam cultivars or lines planted in the soil in pots under greenhouse conditions

Yam cultivar or line	No. of <i>P. coffeae</i> /plant
cv. Tainung No. 5	7242 a ^z (4080–10110) ^y
Line Chungpu 018	3236 b (1960–4800)
Line Shanlin 067	1642 c (580–3940)

^z Data were $\log(x + 1)$ transformed prior to statistical analysis. Means within the column followed by the same letter do not significantly differ according to the LSD test ($P < 0.05$).

^y Number in bract is range of *P. coffeae*.

山藥莖節內有內生真菌存在，利用次氯酸鈉進行表面消毒顯然無法深入莖節內部，利用滲透力較強之亞托敏藥劑處理則可以有效降低組培試管之污染率。在調查根腐線蟲在山藥試管內之繁殖量時需同時計數山藥根系及培養基內之線蟲，因為根腐線蟲雖然為內寄生潛移性線蟲，然此線蟲在試管內可能因為根系養份之消耗，線蟲亦會移行至培養基中，因此在本研究探討根腐線蟲之繁殖量時必需一併計算培養基中線蟲之含量，此與利用香蕉試管培養篩選抗穿孔線蟲品系之研究方法類似 (Elsen *et al.* 2002)。

為比較根腐線蟲在試管培養及溫室盆栽山藥中之繁殖力差異性，另將山藥薯塊催芽後，再放至盆鉢種植待長成植株後，再進行線蟲之接種，此法於接種後至少需 3 個月以上才能繁殖足量之線蟲用以評估土壤中線蟲之含量，以進行繁殖力評估 (Ni *et al.* 2007)，此法之缺點除了試驗受限於山藥適當栽培之時間 (約為每年 3–5 月)，另外必需同時具有足夠線蟲活力之病薯皮以供接種，重要的是必需要有相當大的空間進行山藥之栽培及人力進行管理，試驗結果必需以柏門氏漏斗法評估土壤中線蟲之繁殖量，流程相當繁鎖，耗費的時間相對也較長。然而利用山藥試管培養進行根腐線蟲在不同山藥品種 (系) 之繁殖力測定，則由於整個試驗

是在溫度、光線及培養基均受到嚴格控管之條件下進行，且山藥之試管培養並不受栽培季節限制，可以循環更新，試驗時間較為彈性，此外，整個試驗所需之空間也相對較小，重複數可以增加，減少試驗之誤差。過去利用植物生體外培養進行線蟲抗性之探討已有諸多報告可供參考，如 Elsen *et al.* (2002) 曾利用香蕉之試管培養進行抗穿孔線蟲香蕉品種之篩選，而且其所篩選之品種抗線蟲特性於田間試驗及溫室盆栽試驗時亦與試管培養亦具有一致性之結果。Franks *et al.* (2003) 亦於葡萄之試管培養中探討不同品種對根腐線蟲 (*M. javanica*) 之抗感性，可迅速獲得可以做為抗根腐線蟲根砧之資訊。因此本研究基於前人之相關研究及利用試管培養之優點，將山藥 Tainung No.5、Chungpu 018 及 Shanlin 067 分別進行根腐線蟲在試管內及溫室之繁殖力差異比較，以評估未來利用試管培養山藥進行根腐線蟲抗感性篩選之可行性。試驗結果顯示，根腐線蟲不論是在山藥試管內或溫室盆鉢內試驗，其在山藥 Tainung No.5 之繁殖量均最高，因此線蟲可以在其植株上大量繁殖，反之，線蟲在 Shanlin 067 中之繁殖量最低，此兩種評估方式所得結果之一致性，顯示未來進一步利用山藥試管培養進行線蟲抗性之評估應該具有其可行性。

在利用山藥試管進行線蟲篩選時，需注意培養線蟲之活力，因為活力不佳之線蟲會影響其對山藥之感病性評估，而胡蘿蔔又為線蟲培養之唯一食物來源，因此在利用胡蘿蔔進行線蟲之無菌培養時，需考量胡蘿蔔之新鮮度，接種源線蟲之活力以及嚴格控制培養之條件，以得到活力較佳之無菌培養線蟲，而同一比較試驗必須儘量使用同一批線蟲，以維持實驗結果之一致性。

綜言之，本研究所建立之利用山藥試管培養進行根腐線蟲繁殖力之評估，未來可進一步瞭解其是否與抗感病性相關，或許可以作為未

來山藥育種時抗感病性初步篩選之方法，藉以降低溫室試驗及田間試驗之規模，以達到省時及省力之目的。

誌 謝

本文承黃鴻章教授協助文章之修正，特此致謝。

引用文獻 (Literature cited)

- Darling, D., R. Harling, R. A. Simpson, N. McRoberts, and E. A. Hunter. 2000. Susceptibility of broccoli cultivars to bacterial head rot: *in vitro* screening and the role of head morphology in resistance. *Eur. J. Plant Pathol.* 106:11–17.
- Dropkin, V. H. and W. R. Boone. 1996. Analysis of host-parasite relationships of root-knot nematode by single-larva inoculations of excised tomato roots. *Nematologica* 12:225–236.
- Dropkin, V. H. and R. E. Webb. 1967. Resistance of axenic tomato seedlings to *Meloidogyne incognita acrita* and to *M. hapla*. *Phytopathology* 57: 584–587.
- Elsen, A., R. Stoffelen, N. T. Tuyet, H. Baimey, H. D. de Boulois, and D. D. Waele. 2002. *In vitro* screening for resistance to *Radopholus similis* in *Musa* spp. *Plant Sci.* 163:407–416.
- Franks, T. K., S. Savocchia, and R. V. Heeswijck. 2003. *In vitro* systems for studying the interaction of root-knot nematode with grapevine. *Nematology* 5:235–242.
- Gamborg, O. L., R. A. Miller, and K. Ojima. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 50:151–158.
- Hidalgo, O. B., R. Santos, R. T. Tussel, A. Pires de Matos, R. S. Cabral, M. Arzola, and C. Perez. 1999. Phytotoxicity of *Fusarium subglutinans* culture filtrates on *in vitro* plantlets and calli of resistant and susceptible pineapple (*Ananas comosus*). *Plant Pathol.* 48:756–758.
- Kang, H., R. B. Hall, S. A. Heuchelin, H. S. McNabb, Jr., C. W. Mize, and E. R. Hart. 1997. Transgenic *Populus*: *in vitro* screening for resistance to cottonwood leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Can. J. For. Res.* 27:943–944.
- 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)
- Lauritis, J. A., R. V. Rebios, and L. S. Graney. 1982. Screening soybean for resistance to *Heterodera glycines* Ichinohe using monoxenic cultures. *J. Nematol.* 14:593–594.
- Lin, G. C. 2006. The Occurrence, Identification and Quarantine Control of Yam Nematode Diseases in Taiwan. Master Thesis. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University. 61 pp. (in Chinese with English abstract)
- Liu, S. Y., J. Y. Wang, Y. T. Shyu, and C. H. Duan. 1992. The development and adaptability of *Dioscorea alata* L. cv. Tainung No.1. *J. Agric. Res. China* 41:140–158. (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)
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15:473–497.
- Ni, H. F., S. L. Hsu, and H. R. Yang. 2007. Evaluation of different method for inoculation for *Pratylenchus coffeae* on yam. *J. Taiwan Agric. Res.* 56:99–106. (in Chinese with English abstract)
- Peng, Y. and M. Moens. 1999. Effects of surface sterilization and cold storage on *in vitro* behaviour of *Pratylenchus penetrans*. *Nematology* 1:647–653.
- Siddiqi, M. R. 1972. *Pratylenchus coffeae*. C. I. H. Descriptions of Plant Parasitic Nematodes. Set 1, No.6. Commonwealth Institute of Helminthology Pub. St. Albans, Herts, England. 330 pp.
- Stoffelen, R., M. I. Jimenez, C. Dierckxsens, V. T. T. Tam, R. Swennen, and D. DeWaele. 1999. Effect of time and inoculum density on the reproductive fitness of *Pratylenchus coffeae* and *Radopholus similis* populations on carrot disks. *Nematology* 1:243–250.

Evaluation of Reproduction of *Pratylenchus coffeae* on Yam (*Dioscorea* spp.) *in vitro* Culture¹

Hui-Fang Ni², Su-Yu Lai², Shu-Li Hsu², Shu-Fen Chang³, and Hong-Ren Yang^{4,5}

Abstract

Ni, H. F., S. Y. Lai, S. L. Hsu, S. F. Chang, and H. R. Yang. 2010. Evaluation of reproduction of *Pratylenchus coffeae* on yam (*Dioscorea* spp.) *in vitro* culture. *J. Taiwan Agric. Res.* 59:42–48.

Pratylenchus coffeae is a major pathogenic nematode causing severe yield losses of yam (*Dioscorea* spp.) in Taiwan. The objective of this study was to evaluate reproduction of *P. coffeae* on yam *in vitro* culture. Female *P. coffeae* cultured on carrot callus tissues were inoculated on yam roots, cv. Tainong No.5, Chungpu 018, and Shanlin 067 in test tubes. After incubation at 25°C under a 12 h light-12 h dark regime for 15 weeks, number of nematodes in each tube was determined. Results showed that population of *P. coffeae* differed significantly ($P < 0.05$) among the yam cultivars, high (8163 nematodes) in cv. Tainong No.5 and low (1551 nematodes) in cv. Shanlin 067. The difference in population of *P. coffeae* between cv. Tainong No.5 and cv. Shanlin 067 was further confirmed by the inoculation of plants grown in pots under greenhouse conditions. This study suggests that the *in vitro* culture method is useful for testing yam cultivars or lines for population dynamics of *P. coffeae*.

Key words: Yam, *Dioscorea* spp., Nematode, *Pratylenchus coffeae*, Reproduction, *In vitro* culture.

-
1. Contribution No.2397 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: March 17, 2010.
 2. Respectively, Associate Researcher and Head, Research Assistant, Research Assistant, Department of Plant Protection, Chiayi Agriculture Experiment Branch, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
 3. Assistant Researcher, Department of Horticulture, Chiayi Agriculture Experiment Branch, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
 4. Researcher and Director, Chiayi Agriculture Experiment Branch, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
 5. Corresponding author, e-mail: yhr@dns.caes.gov.tw; Fax: (05)2764525.