

大豆胞囊線蟲之生態與檢測

顏志恒 助理研究員

國立中興大學農業推廣中心

電子郵件：jhyen@nchu.edu.tw；傳真：04-2286-0267

摘要

大豆原產於中國北部及中部，是目前栽培最古老的作物之一，在中國栽種的歷史超過五千年。而全球主要栽種大豆的國家包括美國、巴西、中國大陸、阿根廷、玻利維亞、加拿大及印尼等等，美國的栽植面積大約佔全球的 43%，是全球最大的黃豆生產及出口國家。在大豆的栽培過程中，病蟲害的發生頻率及種類相當繁多，其中以大豆胞囊線蟲為害最為嚴重，為大豆生產的主要限制因子。大豆胞囊線蟲(Soybean Cyst Nematode，簡稱 SCN)，學名為 *Heterodera glycines* Ichinohe，可造成大豆植株生長矮化及葉片黃化，至 1993 年為止本病在北美地區至少造成 25 億美元以上的大豆產量損失。大豆胞囊線蟲的胞囊為檸檬形，年輕母蟲體表呈白色而成熟後呈黃色，母蟲死亡後體表皮革化而呈暗棕色即為胞囊。大豆胞囊線蟲每隔 3 至 4 星期可完成一個世代，母蟲可生產 200 至 600 個卵，大部份卵儲存於胞囊中，少部份卵則於膠膜(gelatinous matrix)中存放，卵在胞囊的保護下可於土壤中越冬(overwintering)。大豆胞囊線蟲卵具有高比率的越冬存活現象，即大豆胞囊線蟲的卵能夠進入休眠(dormancy)狀態而殘存於休耕的大豆田中，度過嚴寒的冬天，直到翌年春作再次危害大豆，而越冬存活的大豆胞囊線蟲卵，提供大量的二齡幼蟲作為為害下一季大豆栽培的感染蟲源，是大豆胞囊線蟲為害如此嚴重的主要原因。目前以輪作是較為有效的防治方法之一，連續種植兩年非寄主植物可有效地降低土壤中大豆胞囊線蟲二齡幼蟲的密度，另外栽培抗病品種亦是有效的防治方法。大豆胞囊線蟲主要傳播途徑為胞囊藉由風及水流及農耕機械器具黏附的土壤中攜帶的胞囊傳播，另外胞囊亦可混雜於大豆種子中人為傳播。台灣所需之大豆大都由國外進口，大豆胞囊線蟲胞囊混雜於進口之中大豆種子而攜帶進入臺灣的風險亦大為提高，因此建立一套快速診斷及鑑定流程實是刻不容緩，一般大豆胞囊線蟲的檢測以病原線蟲形態特徵鑑定為主，PCR 分子檢測為輔。

關鍵詞：大豆、大豆胞囊線蟲、越冬、休眠

緒 言

大豆[Soybean, *Glycine max* (L.) Merrill]原產於中國北部及中部，是目前栽培最古老的作物之一，在中國栽種的歷史超過五千年。大豆於 1765 年被引進北美洲，最初僅少量栽培作為試驗用，直到 1950 年代美國開始大量種植用於生產大豆油，種植面積才逐漸擴展，至 2000 年為止，全美栽植面積大約有三千萬公頃，每年生產七仟五百萬公噸黃豆，而黃豆是植物性蛋白質及植物食用油的重要來源。全球主要栽種大豆的國家包括美國、巴西、中國大陸、阿根廷、玻利維亞、加拿大及印尼等等，總栽植面積大約有七千萬公頃，美國的栽植面積大約佔全球的 43%，是全球最大的黃豆生產及出口國家。在大豆的栽培過程中，病蟲害的發生頻率及種類相當繁多，病害包括炭疽病、露菌病、白粉病、銹病、疫病及菌核病等，線蟲為害有大豆胞囊線蟲、根瘤線蟲、根腐線蟲、腎形線蟲、刺線蟲及冠線蟲等，其中以大豆胞囊線蟲為害最為嚴重，為大豆生產的主要限制因子，至目前為主，全球主要大豆生產國皆有大豆胞囊線蟲的存在，至 1993 年為止，本病在北美地區至少造成 25 億美元以上的大豆產量損失。

大豆胞囊線蟲的生態

大豆胞囊線蟲(Soybean Cyst Nematode，簡稱 SCN)，學名為 *Heterodera glycines* Ichinohe。1915 年由 Hori 氏於日本發現，因可造成大豆植株生長矮化及葉片黃化，故稱此病害為黃矮化病(yellow dwarf disease)。在美國，則於 1954 年在北卡羅萊納州首先被證實此病害的發生。大豆胞囊線蟲的胞囊為檸檬形，和兩種馬鈴薯胞囊線蟲的胞囊為圓球形有所區別，年輕母蟲體表呈白色而成熟後呈黃色，母蟲死亡後體表皮革化而呈暗棕色即為胞囊。大豆胞囊線蟲每隔 3 至 4 星期可完成一個世代，母蟲可生產 200 至 600 個卵，大部份卵儲存於胞囊中，少部份卵則於膠膜(gelatinous matrix)中存放，卵在胞囊的保護下可於土壤中越冬(overwintering)，直到翌年春天孵化成二齡幼蟲(second juvenile)再次為害，如果土壤環境不適合，卵則可於胞囊中存活達 11 年之久。至 1993 年為止，本病在北美地區至少造成 25 億美元以上的大豆產量損失，主要歸因於大豆胞囊線蟲卵具有高比率的越冬存活現象，即大豆胞囊線蟲的卵能夠進入休眠(dormancy)狀態而殘存於休耕的大豆田中，度過嚴寒的冬天，直到翌年春作再次危害大豆。影響大豆胞囊線蟲休眠的因子包括溫度、溼度、及不同寄主品系(soybean isolines)等，但發生休眠的原因則尚未被釐清。由實驗結果得知，大豆胞囊線蟲的休眠與土壤溫度並無直接的關係，因此大豆胞囊線蟲的休眠乃為自發性的，不受外界環境所影響。瞭解大豆胞囊線蟲的休眠機制對於大豆的栽培是相當重要的，因為越冬存

活的大豆胞囊線蟲卵，提供大量的二齡幼蟲作為為害下一季大豆栽培的感染蟲源。因此若能打破大豆胞囊線蟲卵的休眠狀態，使其孵化為二齡幼蟲，而二齡幼蟲在缺乏食物的來源及難耐嚴寒的冬天等雙重威脅下，降低感染蟲源，即可達到防治大豆胞囊線蟲為害的目的。而目前輪作是較為有效的防治方法之一，連續種植兩年非寄主植物可有效地降低土壤中大豆胞囊線蟲二齡幼蟲的密度。大豆胞囊線蟲主要傳播途徑為胞囊藉由風及水流及農耕機械器具黏附的土壤中攜帶的胞囊傳播，另外胞囊亦可混雜於大豆種子中人為傳播。台灣所需之大豆(soybean)大都由國外進口，大豆胞囊線蟲胞囊混雜於進口之中大豆種子而攜帶進入臺灣的風險亦大為提高。因此建立一套快速診斷及鑑定流程實是刻不容緩，以下則列舉兩種診斷方法以供參考。

大豆胞囊線蟲之檢測

診斷方法一：田間病徵檢測

由於台灣並無此種胞囊線蟲，因此田間病徵檢測僅適用於進口檢疫之田間隔離圃進行觀察或此病原線蟲由國外不慎引入田間診斷用。而此方法為在田間最直接且快速之診斷方式，但須配合線蟲病害在田間作物上病徵之觀察及整個栽培地區發病環境(包含作物品種及來源、栽培耕作方式、氣候因子、地理位置、田間衛生及可能相關之因子)之綜合了解來進行。隨後可將標本帶回研究室作更精密診斷，如染色、分離及線蟲形態特徵鑑定等，提高診斷之準確性。

1. 設備與材料

1.1 設備

1.1.1 刀子

1.1.2 鏟子

1.1.3 手術用手套

1.1.4 簽字筆

1.2 試材與試劑

無

2. 步驟與方法

2.1 觀察田間作物上病徵、發病情形及栽培環境。

2.2 傾聽栽培業者敘述栽培史。

2.3 詢問蒐集可能發病之相關資料。

3. 結果判讀

- 3.1 感染大豆胞囊線蟲之植株葉片黃化，罹病嚴重時植株死亡(圖 1-A)。
- 3.2 大豆胞囊線蟲二齡幼蟲侵入根尖為害 (圖 1-B)。
- 3.3 罹病植株葉片黃化萎縮變形，植株生長受阻(圖 1-C)。
- 3.4.玉米及花生輪作的大豆田(圖左)與連續栽植大豆田(圖右)感染大豆胞囊線蟲在田間罹病情形比較(圖 1-D)。
- 3.5 大豆胞囊線蟲胞囊混雜於大豆種子不易分辨(圖 1-E)。



圖 1-A



圖 1-B



圖 1-C

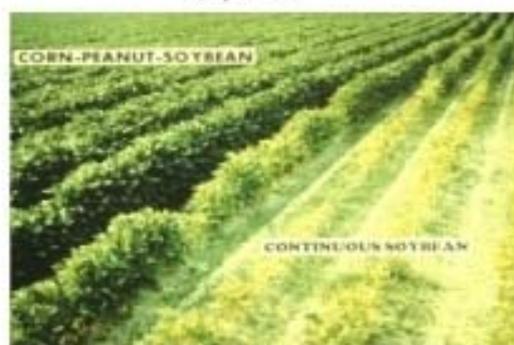


圖 1-D



圖 1-E

診斷方法二：病原線蟲形態特徵鑑定

最基本的植物寄生性線蟲鑑定方法，種、屬甚至科以上之分類一般在顯微鏡下觀察即可獲初步結果。主要依據光學顯微鏡下觀察之外部特徵及體型測量值來區分，但不同地域及生態環境皆可能造成線蟲形態特徵些微變化，又因測量技術、設備、觀察方法及測量人員的準確度不一，仍會造成判定上之誤差。另外許多植物寄生性線蟲具不同生理小種或生物型，無法由外觀及測量值上區別，因此須藉助寄主病原性測試、染色體數目及 DNA 特徵等方法。

1. 設備與材料

1.1 設備

- 1.1.1 光學顯微鏡(具 40X、100X 接物鏡、15X 接目鏡及接目鏡目測微尺)
- 1.1.2 解剖顯微鏡(具 4X 接物鏡及 10X 接目鏡)
- 1.1.3 解剖刀
- 1.1.4 挑針
- 1.1.5 酒精燈
- 1.1.6 羊杉油

1.2 試材與試劑

- 1.2.1 蓋玻片、載玻片
- 1.2.2 培養皿(直徑 9cm)

2. 步驟與方法

- 2.1 胞囊線蟲之雌成蟲很容易自根部上脫落，土壤中之胞囊則於燒杯中加水輕輕攪拌，胞囊將漂浮於水面上層，再倒於濾紙上即可收集鏡檢。
- 2.2 以改良式柏門氏漏斗分離法(modified Baermann funnel method)處理由田間採回之土壤樣本，靜置 24 小時後，收集下方指形管中的線蟲懸浮液，倒入培養皿中待檢。
- 2.3 在載玻片上滴一小滴水，用挑針將線蟲挑至玻片上，蓋上蓋玻片於解剖顯微鏡下標示線蟲位置。
- 2.4 利用酒精燈將線蟲烤死固定後，於光學顯微鏡下鏡檢。
- 2.5 滴一滴羊杉油於 1500 倍率觀察側區。

3. 結果判讀

- 3.1 於罹病植株根部，大豆胞囊線蟲之未成熟雌蟲呈白色黏附於根表皮上(圖 2-A)。
- 3.2 大豆胞囊線蟲之未成熟與成熟雌蟲分別呈白及黃色(圖 2-B)。
- 3.3 大豆胞囊線蟲生活史之不同齡期：分別為二齡幼蟲、二齡幼蟲後期、三齡雌蟲、四齡雌蟲、成熟雌蟲及雄蟲(圖 2-C)。
- 3.4 由大豆胞囊線蟲胞囊釋出之二齡幼蟲(圖 2-D)



圖 2-A



圖 2-B

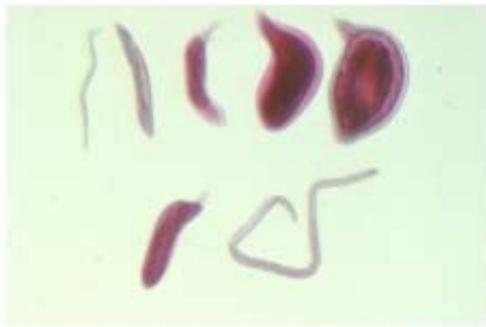


圖 2-C

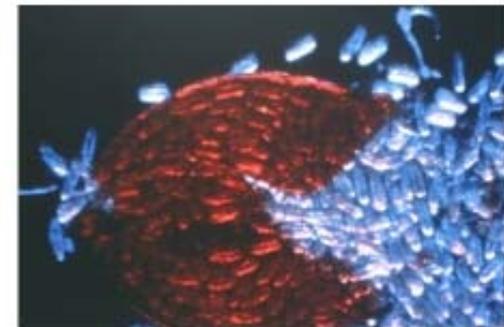


圖 2-D

引用文獻

- Golden, A. M., Epps, J. M., Riggs, R. D., Duclos, L. A., Fox, J. A., and Bernard, R. L. 1972. Terminology and identity of infraspecific forms of the soybean cyst nematode(*Heterodera glycines*). Plant Dis. Rep. 54:544-546.
- Hurtleff, M. C., and Averre III, C. W. 2000. Diagnosing plant diseases caused by nematodes. P. 76-88. APS Press.
- Riggs, R. D., and Schmitt, D. P. 1987. Nematodes. Pages 757-778 in: Soybean: Improvement, production, and uses, J. R. Wilcox, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Riggs, R. D., and Wrather, J. A. 1992. Biology and management of the soybean cyst nematode. APS Press, New York.
- Schmitt, D. P., and Noel, G. R. 1984. Nematode parasites of soybean. Pages 13-59 in: Plant and Insect Nematodes. W. R. Nickle, ed. Marcel Dekker, New York.
- Sinclair, J. B., and Backman, P. A. 1989. Soybean cyst nematode. Pages 65-67 in: Compendium of Soybean Diseases. APS Press, New York.
- Yen, J. H., Niblack, T. L., and Wiebold, W. J. 1995. Dormancy of *Heterodera glycines* in Missouri. J. Nematol. 27: 153-163.