

水田滿江紅 *Azolla pinnata* 之研究

I. 環境因子對滿江紅生長之影響¹

李啓彰 林錫錦 林家蔡²

摘要：本文所用之滿江紅係屬省產之 *Azolla pinnata*，其體內水份約佔鮮重 91~92%，乾物內含高量的氮(4.4%)、鉀(2.4%)等元素。

在 5 ppm Fe (EDTA-Fe) 濃度下，滿江紅在各種培養液內都生長良好，其中 Hoagland, 2/5 conc. Hoagland 及 Tollens 培養液生長更佳。在各培養液不加藻的情形下，滿江紅鮮重雖然增加，但株體變黃，體內含氮量降低。去氮 Tollens 培養液亦很適合滿江紅生長與增殖。光照在 9000 lux 以上滿江紅生長良好，在 12000 lux 以上生長呈飽和狀態。對溫度適應而言，在 40°C 時培養 2 天即告死亡，35°C 時生長緩慢，30 至 25°C 間生長良好。pH 值的適應範圍在 4.5~8.5 之間，以 pH 5.5 時生長情形最佳。滿江紅並具有中和培養液酸鹼之特性，可使培養液 pH 值低者提高，高者抑低。

滿江紅為水生蕨類植物，屬槐葉蘋目，滿江紅科，滿江紅屬。屬內有 6 種，臺灣原產有 *Azolla pinnata* 一種⁽¹⁾。

滿江紅株體生長非常迅速，又因葉內有藍藻 *Anabaena azollae* 共生，因此具有極強的固氮力^(4,12)。據 Rains 及 Talley^(11,14) 估計，滿江紅生長 35 天的固氮量約 35 kg/ha，46 天的固氮量約為 93 kg/ha。近年來由於能源危機，化學氮肥之製造成本大為提高，利用天然綠肥來減少化學氮肥使用之研究相當盛行。滿江紅可與水稻共作，不受土地限制影響，因此其經濟價值正逐漸被重視中。

臺灣地處亞熱帶，原產即有 *Azolla pinnata* 一種，環境很適合滿江紅之生長。過去常被忽視。近年來更由於殺草劑大量使用滿江紅生存受到極大威脅。在這種情況下欲將滿江紅應用於本省水田將面臨非常複雜的問題。但在能源缺乏之下，滿江紅不失為一種新能源，值得加強研究。

目前國內有關滿江紅之研究不多，滿江紅養殖之基本資料尚付闕如。因此本研究擬自生態因子對滿江紅生長及固氮影響着手，以為日後更進一步養殖滿江紅提供施用之參考。

材料與方法

滿江紅成分分析：水份用 105°C 烘乾法，直至恆重為止，氮素用 Kjeldahl's⁽²⁾ 法，其他要素則將烘乾滿江紅灰化後⁽²⁾，磷用鉬藍法，鉀用焰光法，鈣及鎂用原子吸光法。

培養液之篩選：選用之培養液計 1. Hoagland⁽⁵⁾ 2. $\frac{2}{5}$ 濃度 Hoagland, 3. Tollens^(3,6), 4. Pfeffer^(3,6) 5. Line and Loutit⁽⁸⁾ 6. 去氮之 Tollens。各種培養液均添加 1 ml/l 之 EDTA-Fe⁽⁶⁾ (其鐵濃度約為 5 ppm)，另加 0.1 ml 微量元素液⁽⁵⁾。上述各培養液裝於 19×24 cm 塑膠盆中，每盆 1,500 ml

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告 第 1019 號。本文之滿江紅經由中興大學植物系講師蔡進來先生協助採得，謹此致謝。
2. 臺灣省農業試驗所農業化系助理、研究員、研究員兼主任。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

。滿江紅接種量為每盆 0.5 g。各處理 5 重複，於溫室內培養，每 5 天換新鮮培養液，至 20 天後量取全部鮮重。接種前及收穫時並法測定各處理滿江紅體內之含氮量。

光度試驗：去氮之 Tollens 培養液裝於容積為 680 ml 之點滴瓶中，每瓶 500 ml，並接種 0.3 g 之滿江紅，置於光度為 9000 lux 之日光燈下 1 小時後以乙炔還原法測定固氮力⁽⁸⁾（乙炔分壓約為 14%）後打開瓶塞，再分置於 0、1000、3000、6000、9000、12000、15000 lux 等 7 種光照下培養。每處理重複 5 次，培養 3 天後再測定各處理之固氮力，並量取其鮮重。

鐵濃度對滿江紅生長及固氮力之影響：去氮之 Tollens 培養液內分別以 EDTA-Fe 加入 0、2、5、10、20 ppm 等 5 種濃度之 EDTA-Fe，每濃度 5 瓶，每瓶 500 ml，全部處理共 25 瓶，於 9000 lux 光照下培養 4 天後稱取鮮重並測定固氮力。

溫度對滿江紅生長之影響：所用培養液及接種量與光度試驗相同，在 9000 lux 下分別置於 15、20、25、30、35 及 40°C 水浴箱內培養滿江紅而於第 3 天稱取各處理鮮重。

pH 值對滿江紅生長之影響：接種量同光度試驗，去氮之 Tollens 培養液以 IN 之 HCl 及 KOH 調成 3.5、4.5、5.5、6.5、7.5、8.5 及 9.5 等不同 pH 值，每一 pH 值處理重複 3 次，於培養後第 3 及 7 天稱取滿江紅鮮重並測定培養液之 pH 值。

結 果

滿江紅之成分分析：本研究所用滿江紅之含水量約占鮮重之 91~92%，含氮量約占乾重之 4.4%（粗蛋白約為 28.6%），碳水化合物約為乾重之 38.5%，此外並含相當量之鉀（2.4%）鈣（1.2%）等（表 1）。以上各成分受培養情況之影響而有所不同。

表 1. 滿江紅成分分析表
Table 1. Analysis of *Azolla pinnata* (Da Li Clone)

| Analysis | % |
|---------------------|-------|
| Water | 91-92 |
| Dry matter | 8-9 |
| Total carbohydrates | 38.5 |
| Raw protein | 28.6 |
| Total nitrogen (N) | 4.4 |
| Potassium (K) | 2.4 |
| Calcium (Ca) | 1.2 |
| Phosphorus (P) | 0.8 |
| Magnesium (Mg) | 0.6 |

滿江紅培養液：本試驗以 5 種常用植物及固氮微生物培養液培養滿江紅後發現，除 Pfeffer 培養液外，滿江紅在其他有氮源及無氮源之培養液內都能生長，而以 Hoagland, $\frac{2}{3}$ conc Hoagland, 有氮源 Tollens 及無氮源 Tollens 培養液較佳，20 天後不但鮮重增參了二十多倍，體內含氮量也比原來要高表(2)。但培養液內的鐵源若不以 EDTA-Fe 取代，則全部的生長情形都差。另外以不同濃度 EDTA-Fe 處

理滿江紅時發現 2 ppm 以上 EDTA-Fe 即可使滿江紅生長良好。而不加 EDTA-Fe 時滿江紅鮮重仍能增加，不過增加的鮮重及固氮力都較差，而且培養後滿江紅株體變黃，含氮量降低甚多（表 3）。

表 2. 培養液對滿江紅生長之影響

Table 2. Effects of nutrient solutions on the growth of the azolla

| Solutions | Days after cultivation | | | |
|-----------------------------|------------------------|-----------------|----------------|------|
| | 0 | | 20 | |
| | fw | %N ^a | fw | %N |
| Hoagland solution | 0.5 | 4.4 | 13.6 | 4.95 |
| 2/5 conc. Hoagland solution | 0.5 | 4.4 | 14.2 | 4.98 |
| Tollens solution | 0.5 | 4.4 | 13.4 | 4.80 |
| Tollens solution (-N) | 0.5 | 4.4 | 13.1 | 4.52 |
| Line and Loutit solution | 0.5 | 4.4 | 10.4 | 3.66 |
| Pfeffer solution | 0.5 | 4.4 | — ^b | — |

a. On dry weight basis.

b. Death of azolla.

表 3. 不同濃度鐵 (EDTA-Fe) 對滿江紅生長之影響

Table 3. Effects of iron concentrations on the growth of the azolla

| Fe conc. (ppm) | Days after cultivation | | | | Final %N ^c |
|-------------------|------------------------|-----------------------------------|------|----------------------|-----------------------|
| | 0 | | 4 | | |
| | fw ^a | N ₂ fixed ^b | fw | N ₂ fixed | |
| 0 | 0.3 | 95.2 | 0.66 | 73.2 | 3.8 |
| 2 | 0.3 | 100.1 | 0.83 | 124.6 | 4.6 |
| 5 | 0.3 | 92.3 | 0.83 | 131.6 | 4.9 |
| 10 | 0.3 | 84.4 | 0.78 | 123.8 | — ^d |
| 20 | 0.3 | 85.7 | 0.77 | 113.5 | — |

a. Fresh weight, gram.

b. n mole C₂H₄/0.1g fw/hr.

c. On dry weight basis.

d. No data.

環境因子之影響：滿江紅在日光燈照度 3000 lux 以下生長不佳，固氮力亦低，9000 lux 以上生長良好，12000 lux 以上生長與固氮力似呈飽和情形，6000 lux 以下生長情形稍差（表 4）。

又實驗中得知，滿江紅之固氮力與光照呈立即性的反應。因此在不同光度下一小時內固氮力即有明顯不同（表 4）。另外在 9000 lux 室溫下，滿江紅之固氮量與時間呈直線關係（圖 1）。溫度對滿江紅生

表 4. 光照對滿江紅生長之影響

Table 4. Effects of illuminations on the growth of *Azolla pinnata*

| Illumination (lux) | Days after cultivation | | | | |
|-----------------------|------------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------------------------|
| | 0 | | 3 | | |
| | f. w. ^a | N ₂ fixation ^b | | f. w. ^a | N ₂ fixation ^b |
| 0 | 0.30 | 90.4 ^c | 14.7 ^d | 0.24 | 0.0 |
| 1000 | 0.30 | 92.1 | 53.4 | 0.45 | 63.8 |
| 3000 | 0.30 | 87.5 | 80.0 | 0.52 | 98.2 |
| 6000 | 0.30 | 97.0 | 94.7 | 0.61 | 98.0 |
| 9000 | 0.30 | 97.0 | 98.4 | 0.66 | 116.8 |
| 12000 | 0.30 | 90.0 | — | 0.70 | 126.2 |
| 15000 | 0.30 | 102.3 | — | 0.71 | 128.6 |

a. Fresh weight, gram.

b. n mole C₂H₄/0.1g f. w./hr.

c. Before illumination treatment.

d. After illumination treatment.

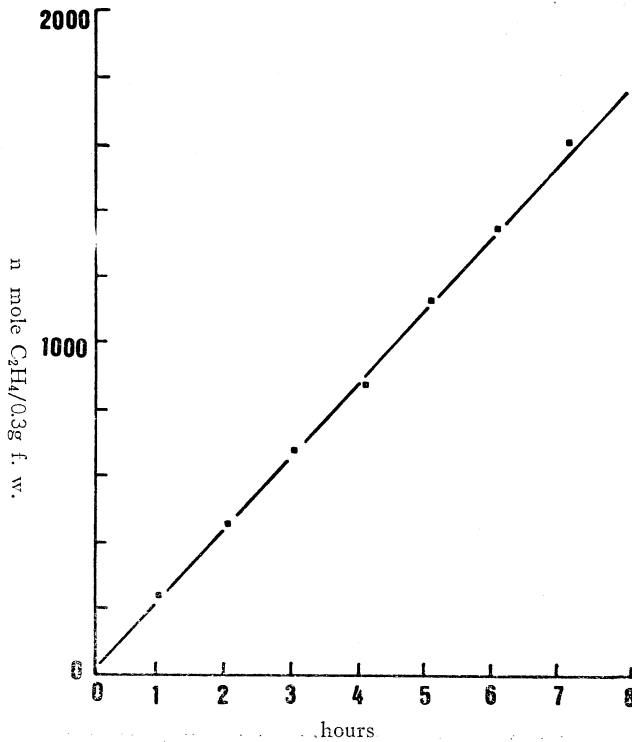


圖 1. 滿江紅固氮力與時間呈直線相關

Fig. 1. Linear correlation between nitrogen fixation of *Azolla pinnata* and the time course of growth

長之影響甚大，在 40°C 時，2~3 天內大部份滿江紅即已死亡，少數倖存者亦呈碎片狀，不見增殖情形。35°C 時滿江紅不會死亡，但鮮重增加不多，3 天內只增加 60% 左右。滿江紅在 25°C 及 30°C 時生長最好，3 天內鮮重增加了 2 倍以上。滿江紅在 20°C 溫度以下生長情形變差，3 天內鮮重只增加 30~90% 左右（表 5）。滿江紅對 pH 值的適應範圍在 4.5~8.5 之間，而以 5.5~6.5 之間滿江紅鮮重增加最顯著。又培養後各培養液其 pH 值都趨向中性（表 6）。

表 5. 溫度對滿江紅生長之影響

Table 5. Effects of temperatures on the growth of the azolla

| Temperatures (°C) | Fresh weight of azolla at initiation (g) | Fresh weight of azolla after 3 day's growth (g) |
|-------------------|--|---|
| 15 | 0.30 | 0.40 |
| 20 | 0.30 | 0.58 |
| 25 | 0.30 | 0.84 |
| 30 | 0.30 | 0.70 |
| 35 | 0.30 | 0.50 |
| 40 | 0.30 | — ^a |

a. Death of azolla

表 6. 不同 pH 值對滿江紅生長之影響

Table 6. Effects of pH values on the growth of the azolla

| Days after cultivation | | | | | |
|------------------------|--------------------|-----|-------|-----|-------|
| 0 | | 3 | | 7 | |
| pH ^a | f. w. ^b | pH | f. w. | pH | f. w. |
| 3.5 | 0.30 | 3.8 | 0.30 | 4.0 | 0.19 |
| 4.5 | 0.30 | 4.6 | 0.52 | 5.1 | 0.61 |
| 5.5 | 0.30 | 5.5 | 0.62 | 5.6 | 0.89 |
| 6.5 | 0.30 | 6.3 | 0.60 | 6.4 | 0.64 |
| 7.5 | 0.30 | 7.4 | 0.60 | 7.0 | 0.63 |
| 8.5 | 0.30 | 7.5 | 0.56 | 7.2 | 0.61 |
| 9.5 | 0.30 | 8.4 | 0.40 | 7.6 | 0.43 |

a. pH values of Tollens solution (-N)

b. Fresh weight, gram

討 論

本文所用之本地種滿江紅其生長與增殖速度非常快，在接種後 2 星期內鮮重往往可增加為原來的 15~20 倍。而在長滿水面後能繼續以疊層 (multiple layers) 的方式增殖。據筆者在溫室估計其疊層數在 45 天後為 4 層左右，但田間估計在 5~6 層之間。由於高含氮量，高生長速率及高疊層數，筆者認為本地種的滿江紅當可成為非常好的水田綠肥。

已知之六種滿江紅中以 *Azolla pinnata*, *A. mexicana*, *A. caroliniana* 及 *A. filiculoides* 等較常被用作研究材料。IRRI 於 1978 年⁽⁷⁾ 研究報告指出 *A. pinnata* 在日夜溫度 37/29°C 高溫下生長速度及單位面積固氮量都要比 *A. filiculoides* 及 *A. mexicana* 好得多。但在 29/21°C 下 *A. filiculoides* 之生長情形比 *A. pinnata* 略好。不過就田間養殖而言，*A. pinnata* 在 IRRI 之生長情形似乎較 *A. filiculoides* 為優。本省地處亞熱帶，是 *A. pinnata* 的原產地之一，因此就環境適應而言，養殖 *A. pinnata* 應是很適合的。

一般滿江紅對溫度及光照都很敏感，Becking (1976)⁽⁴⁾ 指出 *A. pinnata* 之固氮力在 14 klux 至 27 klux 間並無區別，而白天日照達 80~90 klux 時 *A. pinnata* 固氮力明顯降低。但黑暗情形下 *A. pinnata* 固氮力在一小時後即接近於 0。Peters (1976, 1978)^(9,10) 研究 *A. caroliniana* 時發現其固氮力在 4840 lux 時即可呈飽和情形，顯然與 *A. pinnata* 有很大的不同。本研究所用之 *A. pinnata* 在 9000 lux 光照時固氮力頗佳，12000 lux 以上似呈飽和情況。不過在田間，固氮力受光照影響之情形則有待進一步實際去探討。溫度方面據 Watanabe (1977)⁽¹⁵⁾ 研究 *A. pinnata* 時發現在 26/18，與 31/24°C 水溫時其生長情形都相差不遠，但在 35/27°C 時生長降低了 50% 左右。不過越南農民所用之 *A. pinnata* 在溫度超過 22~24°C 即會死亡⁽¹³⁾，兩者耐熱能力差異甚大。本文所用之 *A. pinnata* 在 30°C 時仍生長的很好，顯然為耐熱品系。由於 *A. pinnata* 不同品系之間可能有不同的耐熱力。就本省氣候而言，二期作之氣溫偏高，因此相當須要耐高熱品系之滿江紅。本文之 *A. pinnata* 品系在 35°C 時生長速度急劇下降，是否適於二期作使用，有待證明。滿江紅對低溫適應性亦差，Aham⁽⁴⁾ 研究 *A. filiculoides* 時發現 20°C 以下生長情形不佳，Gopal⁽⁴⁾ 亦觀察到 *A. pinnata* 在印度，無法以株體越冬。本省最低溫大多在每年一至二月間發生，二月以後溫度即逐漸回升。由於嚴寒時間不長，因此對一期作而言，可能更利於滿江紅之使用。不過既然滿江紅各品種，品系間對溫度適應有差異，也許尋找或培育出耐高溫及耐低溫品系分別供應一、二期作之需要將是比較實際之方法。

在 pH 值適應方面，本研究所用之 *A. pinnata* 適應範圍在 4.5~8.5 之間，而以 5.5 最佳，與 Watanabe (1977)⁽¹⁵⁾ 之結果相似。本研究亦發現滿江紅有中和環境中過酸或過鹼的 pH 值的效果，此一效果是否見於田間仍有待證明。

滿江紅生長所需元素以 P, Mg, Fe 等最為重要，其中 Fe 缺乏造成滿江紅生育不良最易被忽視。尤其以培養液養殖時，更須注意 Fe 源問題。由於各地水質之 pH 值不同，影響一般氯化鐵、硫酸鐵之有效性甚鉅，因此，本研究以 EDTA-Fe 當鐵源而使滿江紅在各種培養液內大多有相當好的生長情形。

參 考 文 獻

1. 中山自然科學大辭典·1972·第 8 卷·植物學·：600·商務書局。
2. 包伯度·鄭雙福·1976·肥料學：222-226·遠東圖書公司。
3. 陳大武·1970·真菌學實驗·：168 國立中興大學植病系講義。
4. Becking, J. H. 1979. Environmental requirements of *Azolla* for use in tropical rice production In Nitrogen and Rice : 345-375. IRRI.
5. Gamborg, O. L. and L. R. Wetter. 1975. Plant tissue culture methods, p. 41, 46, 92.

6. Hewitt, E. L. 1966. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. : 190-230. Commonwealth Agricultural Bureau.
7. IRRI. 1978. Annual report for 1978. : 245-246. IRRI.
8. Lin, C. J. 1975. Nitrogen fixation, nitrogen metabolism and microbial population in the rhizosphere of the selected grasses, 28 pp. Ph. D Thesis, University of Idaho.
9. Peters, G. A., W. R. Evans., and R. E. Toia. Jr. 1976. *Azolla-Anabaena azollae* relationship. Plant Physiology 58 : 119-126.
10. Peters, G. A. 1977. The *Azolla-Anabaena* Symbiosis In Genetic Engineering for Nitrogen Fixation : 231-258. Plenum Press.
11. Rains, D. W. and S. N. Talley. 1979. Use of *azolla* in north American In Nitrogen and Rice : 417-431. IRRI.
12. Shen, Y. F. 1960. *Anabaena azollae* and its host *Azolla pinnata*. Taiwania 7 : 1-7.
13. Sprent, J. I. 1979. The biology of nitrogen fixation organisms. : 37-49 McGraw-Hill Book Company.
14. Talley, S. N. and B. J. Talley. 1977. Nitrogen fixation by *azolla* in rice field In Genetic Engineering for Nitrogen Fixation : 259-281. Plenum Press.
15. Watanabae, I., C. R. Espinas., N. S. Berja and B. V. Alimagno. 1977. Utilization of the *Azolla-Anabaena* complex as a nitrogen fertilizer for rice. IRRI. Res. Pap. Ser. 11. 15 p.

The use of *Azolla pinnata* in rice paddies

I. The influences of enviromental factors on the *Azolla pinnata*¹

C. C., Lee, C. J. Lin and C. F. Lin²

Summary

A local variety of *Azolla pinnata*, with high content of nitrogen, and potassium was collected for the current study.

With the addition of 5 ppm EDTA-Fe in every nutrient solution, the azolla grew and developed well, especially in Hoagland, 2/5 conc. Hoagland, Tollens and Tollens (-N) solutions. The absence of EDTA-Fe in solutions caused poor growth in all solutions used. Optimum growth was reached at light intensities above 9000 lux with maximum growth at 12000 lux. 40°C was detrimental to the azolla. Above 35°C or below 20°C retarded the growth of the azolla. 25-30°C improved growth condition of the azolla. Suitable pH values ranged between 4.5-8.5, while the most suitable pH value was 5.5. The azolla also showed an ability to neutralize pH values of acidic or basic solutions after cultivation.

1. Contribution No. 1019 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Research assistant, Soil Microbiologist, Soil Scientist and Department Head. Department of Agricultural Chemistry, TARI, Wufeng, Taichung, Hsien Taiwan 431, ROC.