

# 內生菌根菌生物肥料之開發及其應用

程永雄 蔡淑珍\*

## 摘要

利用玉米為宿主繁殖內生菌根菌 *Glomus clarum*，平均每百克土壤中約含有350個厚膜孢子。這些含厚膜孢子之感染土，在貯存的過程中，孢子之存活則受到培養土含水量及貯藏環境溫度的影響。在4°C低含水量（0.16% MHC）有利孢子存活，貯存3及7個月後分別有94.7%及93.5%之厚膜孢子存活，而高含水量（15% MHC），貯存3個月後僅57.5%之厚膜孢子存活，7個月後則降低至44.3%。相同含水量之感染土，在較低之貯存溫度（4°C）比較高之貯存溫度（25°C）更有利於厚膜孢子之存活。田間以內生菌根菌接種洋香瓜苗，不但幼苗移植成活率達99%，植株生長較快且一致，開花期提早，果實品質及產量均有提高。

## 關鍵字

內生菌根菌，洋香瓜。

## 前言

許多報告指出內生菌根菌可感染多種園藝、農藝作物之根系形成菌根，此種菌根構造可增加作物對礦物元素之吸收，尤其是土壤中的磷素，因而增進作物之生長（1, 3）。近年來內生菌根菌已引起許多研究人員的興趣，但首先遇到之問題便是內生菌根菌無法人工培養，以大量繁殖接種源，使其在應用及研究上造成不便，目前惟一可行之解決方法是以栽培適當宿主繁殖菌種。在國外利用蘇旦草（Sudan grass）繁殖內生菌根菌已有很好的效果，而筆者過去之試驗發現百喜草亦是相當適合之宿主，不但菌根形成率高，亦可獲得大量之厚膜孢子。土壤添加有機堆肥亦可提高厚膜孢子之形成。因此綜合許多研究結果，積極開發繁殖內生菌根菌接種源（培養土）之生產流程。

內生菌根菌接種源（培養土）為達到商品化應用並確保有效感染原之存活，因此更需瞭解最適貯存之環境條件。由於內生菌根菌是以厚膜孢子為感染及存活之主要個體，因此瞭解內生菌根菌培養土之含水量及貯存之環境溫度對厚膜孢子存活之影響為首要條件。

筆者過去以內生菌根菌 *Glomus clarum* 接種玉米、大豆、蘆筍及西瓜等作物，均有促進這些作物生長之效果，目前以塑膠布隧道式栽培之洋香瓜為供試作物，因其經濟價值高，且須經過移植過程，可節省接種源之使用量，如能達到實用價值，將可大幅提高農民之收益。

## 材料與方法

\*農業試驗所研究員兼分所長、助理。

### 一、內生菌根菌原種之繁殖與保存

於網室內設置大型塑膠盆（直徑37公分）栽培玉米，以繁殖內生菌根菌原種。栽培土壤是以殺菌過（60°C，2小時）之河砂與有機堆肥（商品名稱為花根旺），2：1比例混合而成。每盆再加入保存於百喜草之內生菌根菌菌根土 200毫升，充分混合後播種兩粒玉米種子。玉米植株開花結實後，任植株自然乾枯，砍除地上部後，取出部份土壤以篩網傾注法（Wet-sieving and decanting）(4)測定厚膜孢子含量，盆栽培養土壤經過陰乾，裝入塑膠袋內保存作為內生菌根菌原種培養土。

### 二、內生菌根菌培養土大量繁殖及菌種包製作

於網室內以空心磚設置菌種圃（3.6公尺×1.5公尺），以內生菌根菌原種培養土為接種原大量繁殖菌種作為田間示範推廣之接種源。栽培土壤由河砂及有機堆肥（商品名稱為花根旺）以2：1比例混合而成，每個菌種圃內加入原種培養土兩包（4.5公斤／包），其內播種四行玉米種子，每行17株。植後一個月，土面鋪上碎石塊以固定植株，栽培管理則按一般方式進行。玉米開花結實後，任植株完全乾枯，砍除地上部，並逢機取出土壤以篩網傾注法測定厚膜孢子含量，培養土經過陰乾分裝於 PE 塑膠袋，每袋 5 公斤並擠出袋內空氣後封口，以作為各項試驗之接種源。

### 三、培養土含水量與貯存溫度對內生菌根菌厚膜孢子存活之影響

內生菌根菌培養土以殺菌過之河砂混合，調整厚膜孢子含量為百克土壤含 300個孢子，以測定不同土壤含水量與不同溫度下，厚膜孢子之存活。經過調整孢子含量培養土，分別再調整含水量（自然風乾）為 0.16、9.8 及 15% 等，並以塑膠袋包裝密封，每袋 5 公斤，放置於 4°C 及 25°C 之定溫箱內，定期採取土壤以篩網傾注法分離土壤中厚膜孢子，並以低倍顯微鏡檢，孢子含內容物完整者視為存活之孢子，以瞭解何種貯存條件有利於厚膜孢子之存活。

### 四、內生菌根菌田間應用於洋香瓜之生產

在嘉義縣溪口鄉擇試驗田一處，進行內生菌對洋香瓜生長發育之影響，試驗進行兩年以評估其應用價值。洋香瓜於育苗時，栽培土接種內生菌根菌厚膜孢子（約 50 孢子／袋），播種天蜜品種洋香瓜種子，置於 PE 網室內按一般栽培方式管理之。移植前 12 天，本田於整地時每分地加入 900 公斤有機堆肥、25 公斤烏肥、臺肥 43 號及 36 號複合肥各 40 公斤，經充分混合後作畦。搭建 4.3 公尺寬、1.8 公尺高之 PE 中型隧棚，內設兩畦植四行，畦上覆蓋銀白色塑膠布，每隔 40 公分種植一棵，其中二植行為內生菌根洋香瓜，另二行為不加內生菌根菌之對照株苗。每株洋香瓜留二子蔓，留果節位在 13 至 16 節間，蔓長 20 節時進行摘心，栽培管理則按一般方式進行。栽植過程中分別調查瓜苗移植成活率、植株高度及產量。

## 結 果

### 一、內生菌根菌培養土含水量與貯存溫度對厚膜孢子存活之影響

內生菌根菌厚膜孢子之存活是受培養土含水量及貯存溫度之影響。培養含水量愈低愈有利於厚膜孢子之存活，在 4°C 及 0.16% MHC 含水量下，貯存 3 及 7 個月後，厚膜孢子之存活分別為 94.7% 及 93.5%，在 15% MHC 含水量下，經 3 個月後僅 57.5% 存活，

7個月後則降低至44.3%。貯存溫度為25°C時，培養土含水量愈低(0.16%MHC)亦較有利於孢子之存活。在同為0.16%MHC含水量下，4°C貯存溫度比25°C較有利於厚膜孢子之存活(表一)。

表一、內生菌根菌培養土不同含水量及貯存溫度對厚膜孢子存活之影響

培養土含水量	厚膜孢子存活率(%) <sup>1</sup>				
	4°C			25°C	
	0 <sup>2</sup>	3月	7月	3月	7月
15% MHC	95.4	57.5	44.3	55.3	38.2
9.8% MHC	94.8	58.0	43.0	63.8	53.7
0.16 MHC	95.1	94.7	93.5	79.8	70.7

1. 培養土以篩網傾注法分離出厚膜孢子，在解剖顯微鏡下觀察，孢子含內容物完整者視為有活性。

2. 不同含水量培養土封袋前取出部份土壤，進行(1)之步驟；其餘土壤密封後分別貯存於4°C及25°C之定溫箱，在3及7個月後進行調查。

## 二、內生菌根菌種包之製作

利用空心磚設置菌圃種植玉米繁殖接種源，整個過程約需四個月時間，由於玉米栽種期間並不需花費許多時間管理，可節省人力。生育後期植株乾枯後採收培養土，調查土壤中厚膜孢子含量，在每百克培養土中約有350個厚膜孢子。培養土經過風乾裝袋，壓去袋內空氣後封口，而成內生菌根菌接種源，每袋5公斤可供0.1公頃洋香瓜種苗(700棵)之需。

## 三、內生菌根菌田間應用於洋香瓜之生產

溪口鄉洋香瓜試驗田之土壤，經分析屬砂質土壤，土壤酸鹼值為5.2，有機質含量2.6%，P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>每公頃含量558公斤，K<sub>2</sub>O每公頃含量428公斤。洋香瓜接種內生菌根菌者與對照組未接種者比較，能提高種苗移植成活率，第一年(78年度)試驗，分別為99.7%與91%；第二年(79年度)試驗則為99%與95%(表二)。內生菌根株苗移植後，植株生長較快速，於移植後第36天調查，第一年試驗內生菌根株苗蔓長115公分，一般未接種之株苗則為95公分，第二年試驗，則分別為145公分及112公分(表三)。由於添加內生菌根菌，植株生長快速且一致，因此提早開花結果，果實品質等級亦提高，1、2級品達55%以上。

表二、內生菌根菌培育洋香瓜株苗成活率及菌根形成率<sup>1</sup>

處 理 <sup>2</sup>	種苗成活率(%)		株 苗 內 生 菌 <sup>3</sup> 根 感 染 率(%)		單 株 菌 根 <sup>4</sup> 形 成 率(%)	
	第 一 年	第 二 年	第 一 年	第 二 年	第 一 年	第 二 年
接 種 內 生 菌 根 菌	99.7	99	100	100	29	30
對 照 ( 未 接 菌 )	91	95	0	0	0	0

1. 兩次田間試驗分別在77年10月30日及78年10月17日種植。
2. 洋香瓜育苗時，每個育苗袋內即接種 50 個內生菌根菌厚膜孢子，播種後兩星期移植於本田。
3. 株苗內生菌根感染率 (%) =  $\frac{\text{形成菌根之株苗總數}}{\text{接種內生菌根菌株苗總數}} \times 100\%$ 。
4. 洋香瓜於採前挖起根系經 10% KOH 透化後，再以 Trypan blue 染色，每株切取 40 段約1公分之根段，在低倍顯微鏡下觀察，每一處理鏡檢三植株。

表三、內生菌根菌對洋香瓜生育之效果

處 理	蔓 長 (cm) <sup>1</sup>		
	第 一 年	第 二 年	第 三 年
內 生 菌 根 菌 株 苗 ( M )	115	145	
一 般 株 苗 ( CK )	95	112	

1. 兩次田間試驗分別在77年10月30日及78年10月17日種植，移植後第36天調查蔓度。

## 討 論

有許多研究報告指出內生菌根菌可促進作物之生長 (1, 2, 3)，但在應用上遭遇菌種無法人工大量培養之困難，目前在人工培養基尚未開發前，只能選擇適當宿主繁殖。國外報告以蘇旦草 (Sudan grass) 為繁殖宿主(5)，並利用三種方式來接種 (a) 苗圃接種，(b) 播種田畦加入孢子或含孢子之土壤或根段，(c) 種子以菌根菌孢子被覆後再行種植(7)，而本研究係採用百喜草保存菌種，並以玉米大量繁殖，亦可解決接種源不易取得之問題。在接種試驗中發現，於育苗階段接種，即種子直播於含內生菌根菌之土壤中，內生菌根菌促進生長之效果最好，但如何繁殖大量接種源以供試驗接種為首要克服之問題。本研究發展內生菌根菌菌種製作之流程，採用盆栽百喜草保存純種，再經盆栽玉米繁殖原種，再進行玉米植圃大量繁殖，經採集、風乾、調製成菌種包，提供田間大量接種源，且僅需少數人力，但此流程中，孢子含量尚不理想，並受氣候環境影響產孢子不穩定，因此如何在栽培過程控制環境因子，以利厚膜孢子形成，尚需研究改進。

接種原由於存在於培養土中，除搬運貯存較費時及佔空間外，貯存條件亦須考慮。由試驗結果得知，低溫 (4°C) 低濕 (0.16% MHC) 貯存 7 個月後，仍有 93.5% 之厚膜孢子存活，而 15% 土壤含水量及貯存於 25°C 下，7 個月後僅 38.2% 之厚膜孢子存活 (表一)，因此繁殖後之培養土應儘可能陰乾再低溫貯藏，以確保厚膜孢子之活性。另一方面若能在無土環境下，繁殖內生菌根菌當可解決培養土搬運貯存上之麻煩。利用養液薄膜栽培法繁殖菌種為另一解決途徑(6)，惟植株仍需先以培養土接種後再移植於水耕栽培床。本計劃也曾利用非循環浮根式水耕栽培法繁殖內生菌根菌，雖然植株根系可被感染成功，但無法得大量厚膜孢子，目前正由營養及環境條件改變等方式著手，以期能促進厚膜孢子之產生。

內生菌根菌 *Glomus clarum* 經二年田間應用試驗結果顯示對洋香瓜生長有良好之促進

效果(表二、三)。植株移植成活率達99%，減少補植所需之費用，內生菌根洋香瓜生長快速且一致，使得開花提早，約提早一星期採收，果實之品質亦提高。許多報告指出，內生菌根菌促進作物之生長是由於幫助作物吸收土壤中礦物元素，尤其是磷肥，因為磷肥在土壤中之有效性及移行性較低，但過多之磷肥則會仰制其效益，因此開發內生菌根菌作為生物性肥料，既可減少無機肥料之使用，另一方面也可緩和目前施用過多無機肥料對土壤所造成之不利影響，再配合其它土壤有益微生物如固氮根瘤細菌、拮抗菌等之使用，此一綜合應用之效益，值得進一步研究。

### 參 考 文 獻

1. 程永雄。 1984。內生菌根菌之形成及其對大豆、玉米、蘆筍及西瓜生長之效應。國立中央大學博士論文。 175pp。
2. Cooper, K. M. 1983. Mycorrhizal fungi can improve growth of horticultural crops. *Orchardist of New Zealand* 56 : 410—411.
3. Gerdemann, J. W. 1968. Vesicular—arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phytopathology* 6 : 397—418 .
4. Gerdemann, J. W., and Nicolson, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet-sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46 : 235—244.
5. Menge, J. A., Lembright, H., and Johnson, E. L. V. 1977. Utilization of mycorrhizal fungi in citrus nurseries. *Proc. Int. Soc. Citric* 1 : 129.
6. Mosse, B., and Thompson, J. P. 1984. Vesicular-arbuscular endomycorrhizal inoculum production. I. Exploratory experiments with beans (*Phaseolus vulgaris*) in nutrient flow culture. *Can. J. Bot.* 62 : 1523—1530 .
7. Schenck, N. C. 1982. Methods and principles of mycorrhizal research. *The American Phytopathological Soc. MN.* 244pp.