

固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp. 菌劑對有機水稻秧苗及植株生育影響之研究

張明暉^{1,*}、簡宣裕²、鄭金滿³

摘要

本研究於一期和二期作水稻秧苗育苗過程分別接種稀釋 10^2 倍、 10^3 倍及 10^4 倍等液態固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp. 菌劑，以未施用菌劑為對照處理，評估該菌劑對秧苗生育效益；及探討有機水稻每公頃施用 150 kg、100 kg 及 75 kg 氮素之有機質肥料，並施用稀釋 10^2 倍菌劑對植株生育的影響。秧苗試驗結果顯示：一期作施用菌劑處理之秧苗根長皆明顯大於未施用菌劑處理；田間試驗結果顯示：一期作每公頃施用 75 kg 氮素之有機質肥料及未施用有機質肥料，並施用菌劑處理之株高分別為 112 cm 與 104 cm，高於未施用菌劑之對照處理 (108 cm 與 100 cm)。另施用菌劑處理之分蘗數與穗數亦顯略高於未施用菌劑處理的趨勢。除此，每公頃施用 75 kg 氮素之有機質肥料並施用菌劑處理者之每樣稻稈乾重為 57 g，高於未施用菌劑處理者 (49 g)；二期作每公頃施用 150 kg 氮素之有機質肥料並施用菌劑處理之株高為 98 cm，顯著高於未施用菌劑處理 (93 cm)。每 100 樣稻穀乾重為 3.43 kg 顯著高於未施用菌劑處理 (3.15 kg)，相當於每公頃乾稻穀重為 5.01 ton，比未施用菌劑處理增加 9.1%。

關鍵詞：固氮螺旋菌、有機水稻、菌劑。

前言

固氮螺旋菌 (*Azospirillum* spp.) 為植物生長促進菌 (Plant-growth-promoting bacteria, PGPB) 的一種，不僅具有固氮作用，可減少氮肥施用。亦可分泌 IAA

* 通訊作者：mhchang@tari.gov.tw

¹ 農委會農業試驗所農業化學組助理研究員。台灣。台中市。

² 農委會農業試驗所農業化學組前研究員。台灣。台中市。

³ 農委會農業試驗所農業化學組計畫助理。台灣。台中市。

(Indole-3-acetic acid)、GA (Gibberellin) 及 Cytokinin 等植物荷爾蒙，促進根系生長。及產生細菌素 (Bacteriocins) 與鐵載體 (Siderophores)，並可誘導植物根部產生類黃酮 (Flavonoids) 與酚類化合物 (Benzoxazinoids) 等植物二次代謝產物，具有抗病的效用，可應用於生物防治 (Rodrigues et al., 2015)。過去很多文獻報告指出 *Azospirillum* spp. 可增加促進作物生長及產量 (Okon and Labandera-González, 1994)，並可促進植物根部的鬚根分支的發育而增加根部的接觸面積，進而促進養分及水分的吸收，增加抗旱能力 (Bashan and Holguin, 1997; Bashan and de-Bashan, 2010)。目前以 *A. brasilense* 及 *A. lipoferum* 最常被研究與了解；研究亦發現 *Azospirillum* spp. 可於 100 種植物根部協同共生，可促進植物生長及產量 (Fabricio et al., 2016)，可與水稻、玉米高粱、小麥及小米等世界的主要糧食作物共生，為重要的微生物肥料 (Sivasakthivelan et al., 2013)。目前很多國家都已有商品化產品，如巴西、阿根廷、德、法、美國及印度等 (Rodrigues et al., 2015)，但在我國尚無此類商品化產品。*Azospirillum* spp. 與禾本科植物的根部協同固氮共生 (Pedrosa and Yates, 1984)，但不會形成根瘤，其生長於根的表皮或皮層細胞間隙 (Reinhold et al., 1986)，亦可以游離而非共生方式普遍分布於土壤 (<http://microbiology.scu.edu.tw/MIB/micro/bacteria/A13.htm>; Döbereiner and Pedrosa, 1987)。

本研究目的在於評估具有固氮效率、分泌促進植物生長物質及可與作物根部形成協同共生功能之固氮螺旋菌 *Azospirillum* spp. 菌劑對有機水稻秧苗及植株生育的影響。

材料與方法

固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp. 菌劑對有機秧苗生育影響之探討

以水稻品種台農 84 號為稻種，分別於一與二期作於秧苗盤進行秧苗試驗，於稻種及秧苗生育期接種 *Azospirillum* sp. 不同稀釋濃度液態菌劑 (10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4})，並以接種等量稀釋 100 倍不含 *Azospirillum* sp. 之空白液態培養基為對照，4 種處理。即將稻種分別浸入上述不同稀釋濃度菌劑中，經 8 小時後取出瀝乾，進行催芽，播種於裝有土壤之秧苗盤，於秧苗生育期間再追施不同處理菌劑，於秧苗定植插秧前調查株高、根長、葉數及進行植體分析。

評估秧苗接種 *Azospirillum* sp. 液態菌劑對田間水稻生育之影響

選取接種 *Azospirillum* sp 稀釋 100 倍 (10^{-2}) 菌劑之秧苗，以未施用菌劑為對照處理，定植於農試所 21 號試驗田區進行一、二期作田間水稻試驗，生育期間並追施相同稀釋濃度菌劑。肥料施用處理分別為每公頃施用相當於含 150 kg、100 kg 及 75 kg 氮素之有機質肥料 (基肥施用牛糞堆肥，追肥施用菜子粕)，並以未施用有機質肥料為對照處理，8 種處理，3 重複，試驗設計採逢機完全區集設計 (RCBD)，每處理面積約 31.5 m²，種植行株距 25 × 25 cm，於生育期間進行株高、分蘗數、穗數及每株稻稈乾重等生育調查。試驗處理分別為：

處理 1：肥料施用量為 150 kg N ha⁻¹，施用菌劑

處理 2：肥料施用量為 100 kg N ha⁻¹，施用菌劑

處理 3：肥料施用量為 75 kg N ha⁻¹，施用菌劑

處理 4：肥料施用量為 0 kg N ha⁻¹，施用菌劑

處理 5：肥料施用量為 150 kg N ha⁻¹，未施用菌劑

處理 6：肥料施用量為 100 kg N ha⁻¹，未施用菌劑

處理 7：肥料施用量為 75 kg N ha⁻¹，未施用菌劑

處理 8：肥料施用量為 0 kg N ha⁻¹，未施用菌劑

結果與討論

固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp. 菌劑對有機秧苗生育影響之探討

水稻秧苗育苗試驗土壤之肥力分析結果顯示，土壤、pH 為 7.39，電導度為 1.72 ds m⁻¹，有效性氮、磷、鉀含量分別為 120 mg kg⁻¹、16 mg kg⁻¹ 及 84 mg kg⁻¹ (表 1)。一期及二期秧苗試驗所使用之 *Azospirillum* sp. 經液態培養後測定之菌濃度分別為 10⁸ CFU mL⁻¹ 和 10⁹ CFU mL⁻¹，結果顯示：一期作施用菌劑處理秧苗之根長皆明顯大於未施用菌劑處理，差異達顯著。其他施用菌劑處理之秧苗株高、根長、葉數及秧苗乾重與對照處理無明顯差異 (表 2 與表 3)；一、二期作水稻插秧前秧苗植體分析結果亦顯示，除二期作未施用菌劑處理之氮素含量略高於施用菌劑處理，其他施用菌劑處理與未接菌劑之對照處理無明顯差異 (表 4)。

表 1. 水稻秧苗育苗土壤之化學性質

Table 1. Chemical properties of rice seedling nursery soil

pH (1:1, w/v)	EC (1:5, w/v) dS m ⁻¹	Available		Exchangeable		
		N	P	K	Ca	Mg
		mg kg ⁻¹				
7.39	1.72	120	16	84	2224	169

表 2. 一期作插秧前秧苗株高、根長及葉數比較

Table 2. Comparison of the height, root length and leave number of rice seedling before transplanted to the field in the first crop

處理	秧苗高度 (cm)	秧苗根長 (cm)	秧苗葉數 (no.)
稀釋 100 倍菌劑	10.8 a	7.7 a	2 a
稀釋 1000 倍菌劑	11.1 a	7.2 ab	2 a
稀釋 10000 倍菌劑	10.3 a	8.3 a	2 a
未施用菌劑	10.9 a	5.7 b	2 a

表 3. 二期作水稻插秧前秧苗株高、根長、葉數及乾重比較

Table 3. Comparison of the height, root length, leave number and weight of rice seedling before transplanted to the field in the second crop

處理	秧苗高度 (cm)	秧苗根長 (cm)	秧苗葉數 (no.)	秧苗乾重 (mg/seedling)
稀釋 100 倍菌劑	8.8 a	8.2 c	2 a	18.3 a
稀釋 1000 倍菌劑	9.1 a	9.3 b	2 a	19.3 a
稀釋 10000 倍菌劑	8.8 a	10.2 ab	2 a	20.8 a
未施用菌劑	8.9 a	10.5 a	2 a	20.5 a

表 4. 一期和二期作水稻插秧前秧苗植體分析比較

Table 4. Comparison of plant analysis of rice seedling before transplanted to the field in the first and second crop

處理	氮	磷	鉀	鈣	鎂
	%			mg kg ⁻¹	
一期作					
稀釋 100 倍菌劑	1.89±0.04	0.43±0.00	1.31±0.05	7972±447	3278±84
稀釋 1000 倍菌劑	1.89±0.02	0.42±0.01	1.41±0.10	7991±796	3184±160
稀釋 10000 倍菌劑	1.97±0.08	0.46±0.02	1.30±0.01	7972±414	3508±218
未施用菌劑	1.88±0.03	0.44±0.02	1.44±0.06	8053±475	3302±89
二期作					
稀釋 100 倍菌劑	1.84±0.18	0.49±0.02	1.29±0.05	6585±472	3183±63
稀釋 1000 倍菌劑	1.87±0.06	0.52±0.01	1.39±0.05	7276±25	3426±1
稀釋 10000 倍菌劑	2.12±0.06	0.45±0.03	1.42±0.02	6919±298	3217±221
未施用菌劑	2.23±0.16	0.47±0.02	1.52±0.02	6148±680	3107±275

評估秧苗接種 *Azospirillum* sp. 液態菌劑對田間水稻生育之影響

一期作水稻試驗前之田區表土 0-15 cm 之肥力分析結果顯示，土壤 pH 為 6.41，電導度為 0.16 ds m⁻¹，有效性氮、磷、鉀含量分別為 24 mg kg⁻¹、75 mg kg⁻¹ 及 115 mg kg⁻¹ (表 5)。一期作收割時因受鳥害影響，農藝性狀調查株高、分蘗數、穗數及每樣稻稈乾重，試驗結果顯示：一期作每公頃施用 75 kg 氮素之有機質肥料及未施用有機質肥料，並施用菌劑處理之株高分別為 112 cm 與 104 cm，高於未施用菌劑之對照處理 (108 cm 與 100 cm)；分蘗數則每公頃施用 150 kg、75 kg 氮素之有機質肥料及未施用有機質肥料，並用菌劑處理分別為 20 支、20 支及 18 支，略高於未施用菌劑之對照處理 (18 支、18 支及 16 支)；穗數則每公頃施用 150 kg、75 kg 氮素之有機質肥料及未施用有機質肥料，並用菌劑處理分別為 18 支、18 支及 15 支，略高於未施用菌劑之對照處理 (16 支、17 支及 13 支)；而每公頃施用 75 kg 氮素之有機質肥料並施用菌劑處理者之每樣稻稈乾重為 57 g，高於未施用菌劑處理者 (49 g) (表 6)。二期作每公頃施用 150 kg 氮素有機質肥料並施用菌劑處理

表 5. 水稻試驗前田區表土之化學性質

Table 1. Chemical properties of topsoil and subsoil sampled before rice experiment

pH (1:1, w/v)	EC (1:5, w/v) ds m ⁻¹	Organic matter %	Available		Exchangeable		
			N	P	K	Ca	Mg
			mg kg ⁻¹				
6.41	0.16	2.70	24	75	115	934	182

表 6. 一期作水稻施用菌劑不同處理對水稻農藝性狀之影響

Table 6. Effects of different treatments applying *Azospirillum* sp. inoculum on the agronomic characteristics of rice in the first crop

處理	株高 (cm)	分蘗數 (no.)	穗數 (no.)	每樣稻稈乾重 (g)
1. (150 kg ha ⁻¹ , inoculated)	113 a ^z	20 a	18 a	57 a
2. (100 kg ha ⁻¹ , inoculated)	110 abc	17 a	16 ab	55 ab
3. (75 kg ha ⁻¹ , inoculated)	112 ab	20 a	18 a	57 a
4. (0 kg ha ⁻¹ , inoculated)	104 cd	18 a	15 ab	44 b
5. (150 kg ha ⁻¹ , uninoculated)	115 a	18 a	16 ab	55 ab
6. (100 kg ha ⁻¹ , uninoculated)	110 abc	18 a	17 ab	55 ab
7. (75 kg ha ⁻¹ , uninoculated)	108 bc	18 a	17 ab	49 ab
8. (0 kg ha ⁻¹ , uninoculated)	100 d	16 a	13 b	44 b

^z Means within a column followed with the same letters are not significantly different at 5% level by LSD test.

之株高為 98 cm，高於未施用菌劑處理 (93 cm)，差異達顯著 (表 7)。每 100 穰稻穀乾重為 3.43 kg 亦顯著高於未施用菌劑處理 (3.15 kg)，相當於每公頃乾稻穀重為 5.01 ton，比未施用菌劑處理者增加 9.1%。

結論

固氮螺旋菌 *Azospirillum* spp. 為友善環境耕作及有機栽培具有發展潛力的微生物肥料，雖然本試驗部分結果顯示該菌劑對有機水稻秧苗及植株生育影響之差異不顯著而未如預期。但於一期作插秧前施用菌劑處理秧苗根長皆明顯大於未施用菌劑處理，差異達顯著；另，於二期作每公頃施用 150 kg 氮素之有機質肥料並施用菌劑處理之株高為 98 cm，高於未施用菌劑處理 (93 cm)，差異達顯著。且每 100 穰稻穀乾重為 3.43 kg 亦顯著高於未施用菌劑處理 (3.15 kg)，相當於每公頃乾稻穀重為 5.01 ton，比未施用菌劑處理者增加 9.1%。顯示 *Azospirillum* sp. 菌劑對有機秧苗及水稻生育仍具有潛在效益，需對其作用機制再作探討及精進施用技術。

表 7. 二期作水稻施用菌劑不同處理對水稻農藝性狀之影響

Table 6. Effects of different treatments applying *Azospirillum* sp. inoculum on the agronomic characteristics of rice in the second crop

處理	株高 (cm)	分蘖數 (no.)	穗數 (no.)	每100穰稻穀乾重 (kg)	每公頃稻穀乾重 (ton ha ⁻¹)
1. (150 kg ha ⁻¹ , inoculated)	98 a ^z	21 a	19 a	3.43 a	5.01
2. (100 kg ha ⁻¹ , inoculated)	93 b	19 abc	18 a	3.21 b	4.69
3. (75 kg ha ⁻¹ , inoculated)	92 bc	20 ab	19 a	3.12 bc	4.56
4. (0 kg ha ⁻¹ , inoculated)	89 c	17 c	16 b	2.97 c	4.33
5. (150 kg ha ⁻¹ , uninoculated)	93 b	20 ab	18 ab	3.15 bc	4.59
6. (100 kg ha ⁻¹ , uninoculated)	93 b	19 ab	19 a	3.12 bc	4.56
7. (75 kg ha ⁻¹ , uninoculated)	92 bc	21 a	19 a	3.06 bc	4.47
8. (0 kg ha ⁻¹ , uninoculated)	90 bc	18 bc	17 ab	2.97 c	4.34

^z Means within a column followed with the same letters are not significantly different at 5% level by LSD test.

引用文獻

1. Bashan, Y., and G. Holguin. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Can. J. Microbiol.*, 43:103-121.
2. Bashan, Y., and L. E. de-Bashan. 2010. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth. A critical assessment. *Advances in Agronomy*, 108:77-136.
3. Döbereiner J., and F. O. Pedrosa. 1987. Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants. *Science Tech. Springer Verlag, Madison*. p.1-155 (Brock/Springer series in contemporary bioscience).
4. Fabricio, C., and D. Z. Martin. 2016. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. *Soil Biology & Biochemistry*, 103:117-130.
5. Okon, Y., and C. Labandera-González, 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.*, 26: 1591-1601.
6. Reinhold, B., T. Hurek, E.G. Niemann, and I. Fendrik. 1986. Close association of *Azospirillum* and diazotrophic rods with different root zones of kallar grass. *Appl. Environ. Microbiol.*, 52(3):520-526.
7. Rodrigues A. C., A. Bonifacio, F. F. de Araujo, M. A. L. Junior, and M. do V. B. Figueiredo. 2015. *Azospirillum* sp. as a Challenge for Agriculture. *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*. p. 29-51.
8. Sivaskthivelan, P., and P. Saranraj. 2013. *Azospirillum* and its formulations: A review. *International Journal of Microbiological Research*, 4 (3):275-287.
9. Tien, T., M. Gaskins, and D. Hubbell. 1979. Plant Growth Substances Produced by *Azospirillum* brasilense and Their Effect on the Growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 37:1016-1024.
10. <http://microbiology.scu.edu.tw/MIB/micro/bacteria/A13.htm>.

The Research of the Effect of *Azospirillum* sp. Inoculant on the Seedling, Growth and Yield of Organic Rice

Ming-Hui Chang^{1*}, Shiu-an-Yuh Chien², Chin-Man Cheng³

Summary

The objective of this plan is to assess the effect of *Azospirillum* sp. inoculum on the rice seedling and the growth and yield of organic rice in the field. The rice seedling's experiment was performed on the seedling trays in the first and second crop, respectively. The treatments of rice seeds were steeped in different concentrations of *Azospirillum* sp. inoculum (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} and control). The results of rice seedlings showed the root length of treatment with *Azospirillum* sp. inoculum was obviously higher than the control without inoculum in the first crop. Additionally, the rice seedlings with *Azospirillum* sp. inoculum diluted to 10^{-2} and without inoculum were chosen for the field experiments, and the results showed the height of treatment with inoculum for applying 75 kg and 0 kg of nitrogen per hectare were about 112 cm and 104 cm, respectively in the first crop that were higher than without inoculum (108 cm, 100 cm). Additionally, there was a tendency that the tiller numbers and panicle numbers treated with inoculum were also slightly higher than without inoculum. Moreover, the dry weight of rice straw per plant of treatment with inoculum and applied 75 kg of nitrogen per hectare was about 75g that was also higher than control (49 g). In the

* Corresponding author, e-mail: mhchang@tari.gov.tw

¹ Assistant Researcher, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

² Former Researcher, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

³ Research Assistant, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

second crop, the plant height applied 150 kg of nitrogen per hectare and adding inoculum was about 98 cm that was higher than without inoculum (93 cm), and the dry grain yield of rice straw per 100 plants was about 3.43 kg that was significantly higher than control (3.15 kg). That was, the treatment applied 150 kg of nitrogen per hectare and with inoculum was about 5.01 ton that was higher than control (4.59 ton) about 9.1%.

Keywords: *Azospirillum* spp., Organic rice, Inoculant.