中華農業研究 (Jour. Agric. Res. China) 49(1): 42～49 (2000)

殺草劑因子對叢枝內生菌根菌族群變動之影響[1]

吳繼光 林淑媛 林素禎[2]

摘要：本報告共記錄三種殺草劑對於田間雜草紫花藿香薊菌根菌的感染與產孢的影響。本試驗證實殺草劑年年春對於紫花藿香薊有顯著抑制菌根菌感染率的效果。雖然殺草劑年年春對於菌根菌孢子的形成，在統計上沒有顯著的抑制作用，但在整體上觀察，施用年年春的處理其孢子數確較對照組少。由於孢子在土壤中保存的時間較長，有關年年春對於產孢的影響，可能需較長的時間追蹤觀察方能做出較確切的結論。年年春、巴拉刈、龍無草等殺草劑的二次施用對於田間的菌根菌族群的種類結構尚未見到產生改變。

關鍵詞：殺草劑、叢枝內生菌根菌、感染率、孢子。

前　言

叢枝內生菌根菌在行政院農委會農業試驗所試驗田(#35)經過三年(1995.8.~1998.7)的長期觀察結果顯示，試驗前土壤中共記錄有12種菌根菌，但經三年玉米與水稻輪作後，其多樣性已呈穩定以*Glomus occultum, G. claroideum, Acaulospora morrowiae, A.* sp. (SM-3501)爲優勢菌種。試驗前土壤中每50克土壤所含的平均孢子數爲221.2 (範圍: 99~358.5)，經過三年的試驗後土壤的孢子數已下降到13.1(範圍：5.3~24.9)。孢子數逐年遞減的現象發現在在各種處理上，即使對照組也不例外。由於#35試驗田內細分爲七處理，四重複，每一處理小區均以田埂0.2M寬做分隔，另每重複的四周又以1M寬的田埂再做大分隔。根據計算所有田埂的面積約佔總面積的十分之一強。目前田間的雜草防治以噴灑殺草劑年年春(glyphosate)、巴拉刈(paraquat)及龍無草(bensulfuron-methyl)爲主。由於分隔用田埂的面積遠較一般農田爲高，其單位面積土壤所承受的殺草劑量自然爲高。叢枝菌根菌孢子數的驟減，雖然有人認爲是因爲水稻種植，淹水所致，但根據本所對另一長期輪作試驗田(#68)的調查，發現水稻連作田內菌根菌的孢子數較玉米-水稻輪作及玉米連作田爲高[17]。顯然菌根菌的族群出現逐年降減的現象，可能是在種植期間所使用的殺草劑過量所引起。

有關殺草劑對於菌根菌的影響，早在1984年Dr. J. Trappe等人[15]曾就殺草劑對於外生菌根菌的影響進行評論，其中年年春似乎對於外生菌根菌沒有影響，甚而有時有促進菌絲生長的現象。但在巴拉刈而言，對於外生菌根菌的菌絲生長則有時會有抑制現象；同時，對於松樹的外生菌根的合成也會造成抑制[3]。

至於殺草劑對於叢枝菌根菌孢子產量的影響，常會因爲作物的種類、施用的劑量、以及環境條件等的不同，而造成結果不一致的現象[9]。巴拉刈依推薦量及其15倍用量施用於小麥田後發現該殺草劑

1. 行政院農業委員會農業試驗所　研究報告第2012號。

2. 本所農化系副研究員、計畫助理、助理研究員。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

並不會造成小麥根圈菌根菌孢子的產量減少[14]。此外，若施用巴拉刈及草滅淨(simazin)於柑橘園內，五年後對於柑橘菌根的感染率也無影響。但這兩種殺草劑於溫室內，若以澆灌的方式施用於柑橘盆栽內，則會顯著降低*Glomus etunicatum*在根內的感染率[11]。由於龍無草是主要用於水稻田間的除草劑，有關於該化學藥劑對於菌根菌的影響則沒有任何的報導。

由於本所#21及#35試驗田中最常出現的雜草之一是屬於菊科的紫花藿香薊(*Ageratum houstonianum* Mill.)。因此本試驗就以年年春、龍無草、巴拉刈等三種殺草劑對該雜草的菌根菌感染率及根圈產孢量的變化進行研究。

材料與方法

各種不同殺草劑施用對於土壤中叢枝菌根菌孢子數的影響：

有關本項試驗的田間處理採完全逢機設計。共有四個處理－對照組，年年春(isopropylamine salt of N-phosphonomethyl glycine)，龍無草(bensulfuron-methyl benzoate)，巴拉刈(1,1-dimethyl-4,4-bipyridylium dichloride)，三重複。每一處理樣區爲5公尺寬的四方形。樣區內的雜草爲紫花藿香薊。殺草劑分別於87年9月2日及88年1月11日依推薦濃度噴灑於樣區(25 m^2)內的雜草上。噴藥後一個月內每星期採樣一次，一個月後每兩個星期採樣一次。 在每一處理的田區逢機選取五個面積一平方公尺的採樣區進行採樣。每一採樣區內將逢機取樣四個點。以採土器採取表土以下二十公分的土壤。同一樣區所採得的次樣品將予以混合。在混合樣品中，稱取50克土後，以濕篩法和糖液離心法分離孢子後，在立體顯微鏡下計算孢子數量並挑取孢子，以PVLG包埋劑製成半永久片，以利於孢子的鑑定與標本之保存[16]。

叢枝菌根菌在各種不同殺草劑施用的土壤中對於紫花藿香薊感染率的影響：

自前一採集的樣品中分離出植物根部樣品，經洗淨後以Bevege[2]和Phillips and Haayman[12]改良法染色，並利用Giovannetti and Mosse[6]的Grid line Intersect Method測定其菌根感染率。

結果與討論

在第一年的試驗結果發現，87年9月2日第一次依推薦濃度噴灑殺草劑後第14天，年年春殺草劑處理出現感染率顯著下降的現象，且此種現象持續達三週之久(表一)。其它殺草劑則無顯著性差異。反觀孢子數的變化，所有的產孢變化似乎與殺草劑的施用沒有直接的影響(表二)。但感染率與孢子數之間似乎呈現互爲消長的現象。在施用殺草劑第十四天時所有的處理均呈現感染率下降的趨勢，而孢子數則呈現上升。

88年1月11日第二次依推薦濃度噴灑殺草劑後，年年春殺草劑處理與第一次試驗結果類似，出現感染率顯著下降的現象，但此種現象則持續達四週之久(表三)。其它殺草劑也與第一次試驗一樣無顯著性差異。但綜觀整個感染率變化的趨勢則略有不同。第一次感染率的變化是於施用殺草劑後，四種處理均呈現下滑的趨勢然後再逐漸上升；而第二次感染率的變化則是於施用殺草劑後，四種處理均呈現上升的趨勢且於施用第三週後升到最高點，然後再逐漸下滑並於第十週時降到最低點。前後兩次的試驗結果肯定年年春殺草劑對於紫花藿香薊的菌根菌感染率的確有負面影響的效果，但在施用殺草劑後菌根菌感染率的整體變化則可能與植體的生理以及氣候可能有關。孢子數的變化在第二次試驗中似乎也與殺草劑的施用沒有直接的影響(表四)。但感染率與孢子數之間除龍無草處理外，其餘兩種殺草劑處理中似乎也呈現互爲消長的現象。在施用殺草劑第七十天時呈現感染率下降的趨勢，而孢子數則呈現上升。

表1. 紫花藿香薊經第一次不同殺草劑處理後菌根菌感染率之變化

Table 1. The changes of colonization rate of *A. houstonianum* after the first herbicide treatment

Treatment	Colonization								
	Pretreatment	7 days	14 days	21 days	28 days	60 days	74 days	90 days	104 days
	%								
CK*	80.0^{a**}	80.8^{a}	54.7^{a}	85.7^{a}	93.8^{a}	81.3^{a}	92.7^{b}	88.0^{a}	90.0^{a}
BMB	73.4^{a}	80.2^{a}	56.6^{a}	79.1^{a}	88.5^{a}	76.7^{a}	---	87.0^{a}	---
DBD	78.5^{a}	68.0^{a}	48.6^{a}	76.7^{a}	87.4^{a}	79.0^{a}	---	86.3^{a}	---
IPG	79.4^{a}	55.0^{a}	11.2^{b}	20.9^{b}	28.0^{b}	87.7^{a}	96.3^{a}	85.7^{a}	90.3^{a}

* CK: Control; BMG: Bensulfuron-methyl benzoate; DBD: 1,1-Dimethyl-4,4-bipyridylium dichloride; IPG: Isopropylamine salt of N-phosphonomethyl glycine.

**Means in columns by the same letter are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple range test.

表2. 紫花藿香薊經第一次不同殺草劑處理後菌根菌孢子總數之變化

Table 2. The changes of spore population in the rhizosphere of *A. houstonianum* after the first herbicide treatment

Treatment	Spore no.								
	Pretreatment	7 days	14 days	21 days	28 days	60 days	74 days	90 days	104 days
	spores /50ml								
CK*	873.5^{a**}	397.6^{a}	873.5^{a}	406.0^{a}	343.2^{a}	446.0^{a}	663.7^{a}	850.3^{a}	627.0^{a}
BMB	648.7^{a}	310.6^{a}	648.7^{a}	337.1^{a}	412.2^{a}	350.0^{a}	---	641.7^{a}	---
DBD	523.2^{a}	254.1^{a}	523.2^{a}	594.1^{a}	490.0^{a}	428.3^{a}	---	937.7^{a}	---
IPG	766.7^{a}	228.3^{a}	766.7^{a}	298.0^{a}	327.8^{a}	324.3^{a}	605.3^{a}	460.7^{a}	625.7^{a}

* CK: Control; BMG: Bensulfuron-methyl benzoate; DBD: 1,1-Dimethyl-4,4-bipyridylium dichloride; IPG: Isopropylamine salt of N-phosphonomethyl glycine.

**Means in columns by the same letter are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple range test.

表3. 紫花藿香薊經第二次不同殺草劑處理後菌根菌感染率之變化

Table 3. The changes of colonization rate of *A. houstonianum* after the second herbicide treatment

Treatment	Spore no.							
	Pretreatment	7 days	14 days	21 days	28 days	42 days	70 days	85 days
	%							
CK*	76.3^{a**}	68.3^{bc}	87.0^{a}	91.3^{a}	92.3^{a}	76.7^{a}	30.0^{a}	62.3^{a}
BMB	62.7^{a}	70.3^{ab}	89.0^{a}	95.0^{a}	93.7^{a}	73.7^{ab}	31.7^{a}	50.7^{a}
DBD	74.7^{a}	73.7^{a}	87.3^{a}	93.0^{a}	92.3^{a}	79.7^{a}	32.3^{a}	52.3^{a}
IPG	56.0^{a}	64.7^{c}	77.3^{b}	83.0^{b}	71.0^{b}	59.0^{b}	9.67^{a}	61.7^{a}

* CK: Control; BMG: Bensulfuron-methyl benzoate; DBD: 1,1-Dimethyl-4,4-bipyridylium dichloride; IPG: Isopropylamine salt of N-phosphonomethyl glycine.

**Means in columns by the same letter are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple range test.

表4. 紫花藿香薊經第二次不同殺草劑處理後菌根菌孢子總數之變化

Table 4. The changes of spore population in the rhizosphere of *A. houstonianum* after the second herbicide treatment

Treatment	Spore no.			
	Pretreatment	28 days	70 days	85 days
	spores /50ml			
CK*	463.3[a**]	445.7 [a]	650.3 [a]	345.7 [a]
BMB	284.3 [a]	563.3 [a]	401.7 [a]	273.7 [a]
DBD	452.0 [a]	479.3 [a]	482.3 [a]	344.7 [a]
IPG	335.3 [a]	291.7 [a]	388.0 [a]	194.7 [a]

* CK: Control; BMG: Bensulfuron-methyl benzoate; DBD: 1,1-Dimethyl-4,4-bipyridylium dichloride; IPG: Isopropylamine salt of N-phosphonomethyl glycine.

**Means in columns by the same letter are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple range test.

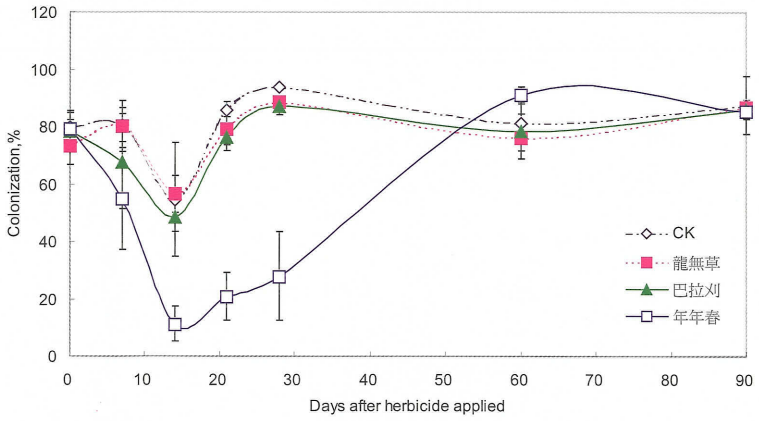


圖1. 紫花藿香薊在第一次殺草劑施用後其菌根感染率之變化

Fig. 1. Colonization change of *A. houstonianum* after 1st herbicide applied.

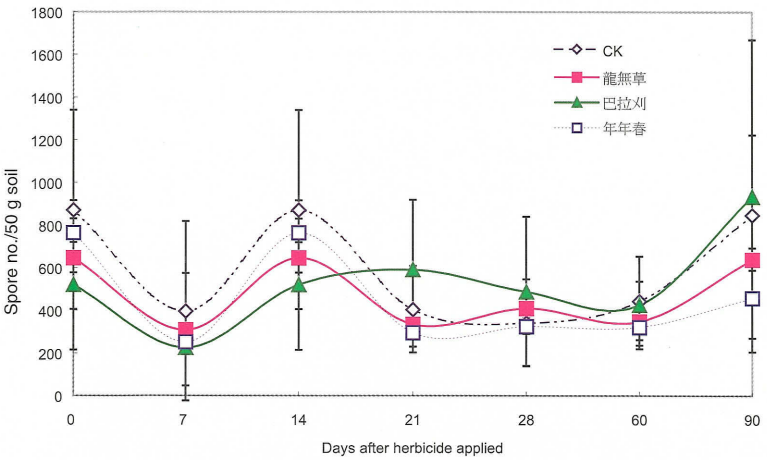


圖2. 第一次殺草劑施用後紫花藿香薊根圈土壤中叢枝內生菌根菌孢子數之變化

Fig. 2. Spore population change of VA mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *A. houstonianum* after 1st application of herbicides.

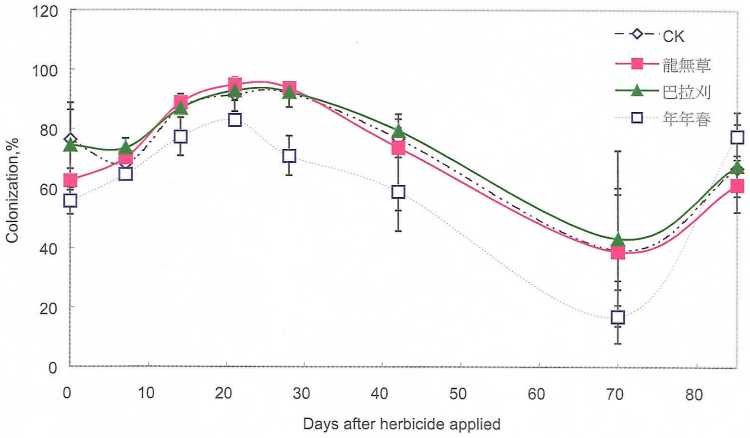


圖3. 紫花藿香薊在第二次殺草劑施用後其菌根感染率之變化

Fig. 3. Colonization change of *A. houstonianum* after 2nd herbicide applied.

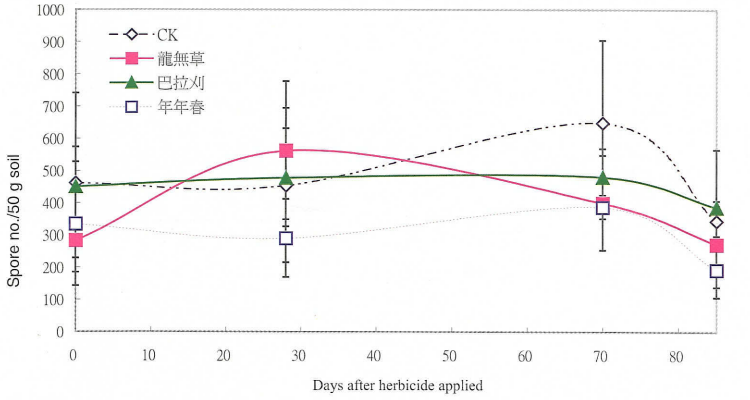


圖4. 第二次殺草劑施用後紫花藿香薊根圈土壤中叢枝內生菌根菌孢子數之變化

Fig. 4. Spore population change of VA mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *A. houstonianum* after 2nd application of herbicides.

在過去的研究中有關菌根感染率與產孢量之間的關係似乎並沒有一個定論[1,7,10]。有些作者認爲根感染率與孢子的產量呈正相關[4,8]；另有些人則認爲沒有任何的關連[5]。但Anderson and Liberta[1]在田間進行的兩年試驗中，發現小藍莖草(*Schizachyrium scoparium*【Michx.】Nash)在添加無機肥的處理下會抑制孢子的產生，但卻可提高菌根的感染率。該項發現與本年度兩次試驗的結果類似。本次試驗中雖有殺草劑的處理，但經比較對照組的產孢與根感染率之後，發現所有處理的變化曲線均類似(圖1~4)。這項發現顯示紫花藿香薊在所有處理中均表現同步的生理變化，所不同的是在殺草劑處理下所表現出來的抑制或促進程度的差異而已。

在本試驗中雖然殺草劑年年春對於菌根菌孢子的形成，在統計上沒有顯著的抑制作用，但在整體上觀察，施用年年春的處理其孢子數確較對照組少。由於孢子本身是一種具有厚壁的繁殖體，可以在土壤中存活一段相當長的時間。自土壤中所篩洗出來的孢子，實在無法判別那些孢子是本季節所產生

的？那些是上一季所形成的？因此在分析殺草劑對於產孢量的影響時，很難在統計上獲致顯著的差異。但本項困擾因子可能在第二年後逐漸消失，因爲在第一年或者更早以前所產生的孢子將會漸漸爲其它微生物所分解。

在殺草劑試驗前的背景調查中共發現*Glomus claroideum, G. mosseae, G. occultum, G. intraradices, Acaulospora morrowiae, A. tuberculata*等主要菌種。但經過兩次殺草劑的試驗後，上述菌種仍存在試驗田的根圈土壤中。本次試驗所使用的殺草劑對於菌根菌族群的組成，尚未見到有任何的影響。但根據Sieverding and Leihner[13]所做的試驗發現在樹薯田內施用殺草劑樂滅草(oxadiazon)會選擇性地對繡球孢子屬(*Glomus* spp.)的族群產生抑制作用，取而代之的是增加大孢子屬(*Gigaspora* spp.)與厚囊實果屬(*Sclerocystis* spp.)的族群。菌根菌族群的組成的改變可能與殺草劑的種類或其化學成份有關。

誌　謝

本報告係行政院國家科學委員會專題研究計畫(NSC 88-2313-B-055-001-A12)成果之一部份，感謝國科會多年在叢枝內生菌根菌生態學研究上之支持；此外，本研究之得以順利完成，應感謝農化系土壤微生物研究室內所有同仁的協助。

引用文獻

1. Anderson, R. C. and A. E. Liberta. 1992. Influence of supplemental inorganic nutrients on growth, survivorship, and mycorrhizal relationships of *Schizachyrium scoparium* (Poaceae) grown in fumigated and unfumigated soil. Am. J. Bot. 79:406-414.
2. Bevege, D. I. 1968. A rapid technique for clearing tannins and staining intact roots for detection of mycorrhizas caused by *Endogone* spp. and some records of infection in Australian plants. Trans. Brit. mycol. Soc. 51:808-810.
3. Cudlin, P., V. Mejstrik, and J. Skoupy. 1983. Effect of pesticides on ectomycorrhizae of *Pinus sylvestris* seedlings. Plant Soil 71:353-361.
4. Daft, M. J. and T. H. Nicolson. 1972. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. IV. Qualitative relationships between the growth of the host and the development of the endophyte in tomato and maize. New Phytol.71:287-295.
5. Daniels Hetrick, B. A. and J. Bloom. 1986. The influence of host plant on production and colonization ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. Mycologia 78:32-36.
6. Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84:489-500.
7. Giovannetti, M., A. Schubert, M. C. Cravero, and L. Salutini. 1988. Spore production by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus monosporum* as related to host species, root colonization and plant growth enhancement. Biol. Fertil. Soils 6:120-124.
8. Hayman, D. S. 1970. *Endogone* spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. Trans. Br. Mycol. Soc. 54:53-63.
9. Johnson, N. C. and F. L. Pfleger. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses. In: G. J. Bethlenfalvay and R. G. Linderman (Ed.), Mycorrhizae in sustainable agriculture. Am. Soc. Agron. Spec. Publ. 54. Madison, WI, pp. 71-99.
10. Khalil, S. and T. E. Loynachan. 1994. Soil drainage and distribution on VAM fungi in two toposequences. Soil Biology & Fertility 26:923-934.
11. Nemec, S. and D. Tucker. 1983. Effects of herbicides on endomycorrhizal fungi in Florida citrus (Citrus spp.) soils. Weed Sci. 31:427-431.
12. Phillips, J. M. and Hayman, D. S. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55:158.
13. Sieverding, E. and D. E. Leihner. 1984. Effect of herbicides on population dynamics of VA-mycorrhiza with cassava. Angew. Bot. 58:283-294.

14.Smith, T. F., A. J. Noack, and S. M. Cosh. 1981. The effect of some herbicides on vesicular-arbuscular endophyte abundance in the soil and on infection of host roots. Pestic. Sci. 12:91-97.

15.Trappe, J. M., R. Molina, and M. Castellano. 1984. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhizal formation to pesticides. Ann. Rev. Phytopathol. 22:331-359.

16.Wu, C.G. and S. C. Lin. (Eds.) 1998. Technical manual of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan. P. 232.

17.Wu, C. G., Y. S. Liu, S. Y. Chien, and T. W. Tan. 1995. Microbial succession in different cropping systems. I. Fluctuation of VA mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria. J. Agric. Res. China 44:114-125.

Herbicide, a Stress Factor on the Population Fluctuation of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi[1]

Chi-Guang Wu, Su-Yuang Lin, and Su-Chen Lin[2]

Summary

In this study, three different herbicides were evaluated for its influence on VA mycorrhizal fungi in terms of colonization and spore production. Only one herbicide, isopropylamine salt of N-phosphonomethyl glycine proved significantly to depress the colonization of *Ageratum houstonianum*, a dominant weed species in the experiment field. At present study, an inhibition effect on the spore production was not significant statistically ; however, the spore population in the treatment of isopropylamine salt of N-phosphonomethyl glycine was relatively less than control. Due to longer persistence of spores in soils, the decline of spore population was expected later in next experiment year. Overall, the herbicides tested in these experiments did not exert any impact yet on the composition of VA community.

Key words : Herbicide, VA mycorrhiza, Colonization, Spore.

1. Contribution No. 2012 from Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture.

2. Associate Researcher, Research assistant, Assistant Researcher, Department of Agricultural Chemistry, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.