

微生物肥料—

菌根菌接種源 生產技術

國立屏東技術學院農園生產技術系/王均琄

(續上期)

二、氣霧式栽培法

前述以盆鉢栽培法所生產之菌根接種源，常遭遇到一些問題，例如其體積與重量過於笨重，操作與搬運不便；孢子土內接種源密度常因環境等因素變異很大，不易掌握；通常其接種潛勢不高，應用於穴格很小之穴盤育苗時，可能整個穴格內充滿了孢子土時，其接種潛勢尚未臻所需之程度，盆鉢內栽培介質易被植物病原菌、菌根菌之重寄生菌、其它雜菌、線蟲或昆蟲所污染。所以筆者於1989年以水耕法及氣霧耕法來栽培菌根植物，期克服上述困境。

早在1980年，Ojala 及 Jarrell 以盆鉢裝矽石砂 (Silica sand) 種植蕃茄，定時以1/2強度 Hoagland's 營養液循環灌溉，他們認為以此種循環式養液砂耕法 (Recirculating hydroponic sand culture system) 對觀察寄主與菌根菌間之關係是很好之工具，因為只需要作簡便之維持手續，即可對養液之化學組成予以限定。結果顯示培養於含低磷營養液之植株，菌根菌感染效果較佳，根皮層內有許多叢枝狀體 (arbuscule) 及囊狀體 (vesicles)。Mosse 及 Thompson (1984) 以養液薄膜法 (Nutrient film technique, NFN) 栽植大豆、玉米、紅苜蓿等十五種菌根化寄生植物，而此類寄主植物是先經過盆鉢種植並接種菌根菌者。結果在老的褐化根系中 (其

Aeroponic culture
inoculum
0.14g / 2604 sporePot culture
inoculum
50ml / 73 g / 2604 spore

氣霧式栽培

傳統砂耕法

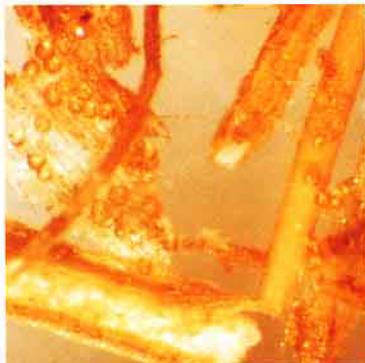


比較氣霧式栽培與傳統砂耕法所得菌根接種源之體積與重量，氣霧栽培者體積與重量均較輕便，容易貯藏搬運，且繁殖體之密度較高，為品質優異之接種源

中有些根在移置 NFT 培養前即已被感染)，感染率較高約30-60%。在新長出白色根系之感染率則約0-10%。

Zobel 等 (1976) 將植物的根系暴露於利用轉動葉輪打起的營養液霧氣中，成功地將豌豆、大豆、蠶豆、落花生、木麻黃、楊梅樹、向日葵等植物氣霧栽培。其培養液採用1/8強度 Hoagland's 營養液。結果顯示植物生長在高度通氣的氣霧耕環境中，植株之根系與根毛發育生長良好；不致擾亂或傷害根系即可對整個根系或根瘤作檢視，不必干擾生長介質即可得到清潔根系以作化學或組織化學之檢查。Hung (1988) 以氣霧耕栽培菌根化百喜草及甘藷，得到不錯的感染率。筆者1989年在農委會補助下，以紅豆為宿主作試驗，亦發現以氣霧式栽培植株之產孢量顯著優於養液薄膜法，而且不同宿主作物、營養液或不同種類菌根菌其產孢量亦不同。經過多年的試驗及改進，目前本研究室以氣霧式栽培4個月植株，每株可收得乾菌根約50克，每克菌根內約有12000粒孢子，以8m×8m 之面積可氣霧栽植280植株，每年可栽植3期，其產值可觀。由於氣霧栽培技術之進步，例如優良宿主作物及營養液之篩選，氣霧栽培設施之改進，菌根菌種類之多元化，氣霧式栽培所生產菌根孢子密度穩定，已可作為生產 VAM 真

菌接種源之方法。生產所得之純淨繁殖體，特別是孢子，不僅可作為接種源，亦為生理及遺傳研究之材料。



立體顯微鏡下觀察氣霧式栽培菌根之碎段，可見許多黃色圓球形之孢子



複式顯微鏡下觀察氣霧式栽培菌根之碎段，可見許多染成藍色之孢子



立體顯微鏡下，觀察氣霧式栽培菌根情形

雖然，以氣霧耕生產菌根接種源，其單位面積之生產成本較高，但其品質、產量及產值仍遠高於傳統盆鉢法，為未來生產菌根種源之主流方法。實施步驟如下：

1. 孢子懸浮液之準備

利用溼篩法及蔗糖梯度法分離孢子，以2% 氯氨 T (Chloroamine T) 加200 ppm 硫酸鏈黴素 (Sulfate streptomycin) 及界面活性劑 (Tween 20, 0.05%) 孢子表面消毒20min，滅菌水沖洗3次，孢子與滅菌水作成孢子懸浮液備用。

2. 盆鉢內植株接種菌根菌

取直徑10公分黑色塑膠盆內置0.9kg 滅菌砂土，土面中間挖一小坑放置經滅菌並摺成漏斗形之濾紙，濾紙上滴入定量並表面消毒過之 *Glomus mosseae* 或 *G. etunicatum*、*G. fasciculatum* 等之孢子懸浮液，覆土2至3cm，播下表面消毒過之種子，再覆土。待種子發芽後，盆鉢置於溫室中培養，待菌根菌感染宿主根且已群棲化 (colonization) 後，洗淨根系以0.05% 次氯酸鈉表面消毒並以滅菌水沖洗三次後，植株移入養液槽內行氣霧耕式栽培。

3. 氣霧式栽培

氣霧耕是利用 PV 管裝置極細粒子噴霧頭接入氣霧耕槽中，由養液桶抽取營養液噴霧於植株根系，營養液最後流回養液桶，如此循環利用。培養液為修正過之霍氏營養液，每三天調整營養液之 pH 使至 6.0，15天換養液一次，定期取樣煮根染

色，調查其產孢情形。

三、根器官培養法

由於囊叢枝菌根菌目前尚無法於任何洋菜培養基上作純培養 (Pure culture)，1975年英人 Mosse 氏曾於增養皿內苜蓿根上觀察到 *Glomus mosseae* 產孢情形，但之後數年內並無人能重覆這樣的實驗。1984年美國 Miller-Widemm 報告將番茄根器官於培養基，接種 *Gigaspora margarita* 孢子，每一培養皿內能產生3至5粒孢子。1987及1988年，Mosse 氏及 Piche 氏先後以農桿菌 *Agrobacterium rhizogenes* 感染培養基上之胡蘿蔔等，使形成大量轉型根，於根上接種 *Gigaspora margarita* 孢子，可得到較佳之產孢結果。

在國內利用轉型根來研究 VAMF 者，1993年有張喜寧教授及其研究生呂斯文博士發表報告，它們利用胡蘿蔔 Pi T-DNA 轉型根及番茄根雙相培養 (Dual culture)，均能於試管內生產囊叢枝菌根菌 *Gigaspora gigantea* 孢子，且以番茄根培養者產孢量較高，於直徑9公分培養皿上可生產72粒孢子。培養新生孢子能當作接種源於試管內再接種，而培養根段亦可繼代培養，並順利產孢，並可用於盆栽上來大量生產接種源。由於雙相培養僅能產生少量無菌孢子，該培養法現階段尚不適宜大量生產接種源，但適合作為菌根生理研究，形態觀察及作為純系接種源之用。☞