

# 農田土壤微生物多樣性評估方法

文／圖 ■ 土壤肥料研究室-潘佳辰、黃瑞彰

微生物於耕作土壤中扮演物質循環的角色，同時也會受到物理、化學性的影響。微生物多樣性較不容易以肉眼直接觀察，且需要透過特定的方式及儀器進行分析通常應用於試驗研究，然而透過特定的田間操作已證實可以提升微生物多樣性。本文將針對微生物多樣性的評估方法以及如何透過田間操作來維持及提升微生物多樣性：

## 評估方法依據現地及實驗室觀察有所差異

一、現地觀察：適用於一般人員田間現地觀察，不需要精密儀器。

### 豆科綠肥作物之根瘤菌數

共生性根瘤菌會在豆科作物根系產生球狀根瘤 (圖一)，透過觀察豆科綠肥作物之根瘤數，可以初步評估耕作土壤之共生性根瘤菌數。

### 降雨後田間積水的清澈度

前人研究指出土壤微生物之分泌物或菌絲有助於增加土壤團粒穩定度，即土壤團粒穩定度越好，降雨或是淹水時較不易造成團粒崩

解。降雨後，土壤團粒穩定度較好的積水較清澈；反之，土壤團粒穩定度較弱的積水較不清澈 (圖二)。

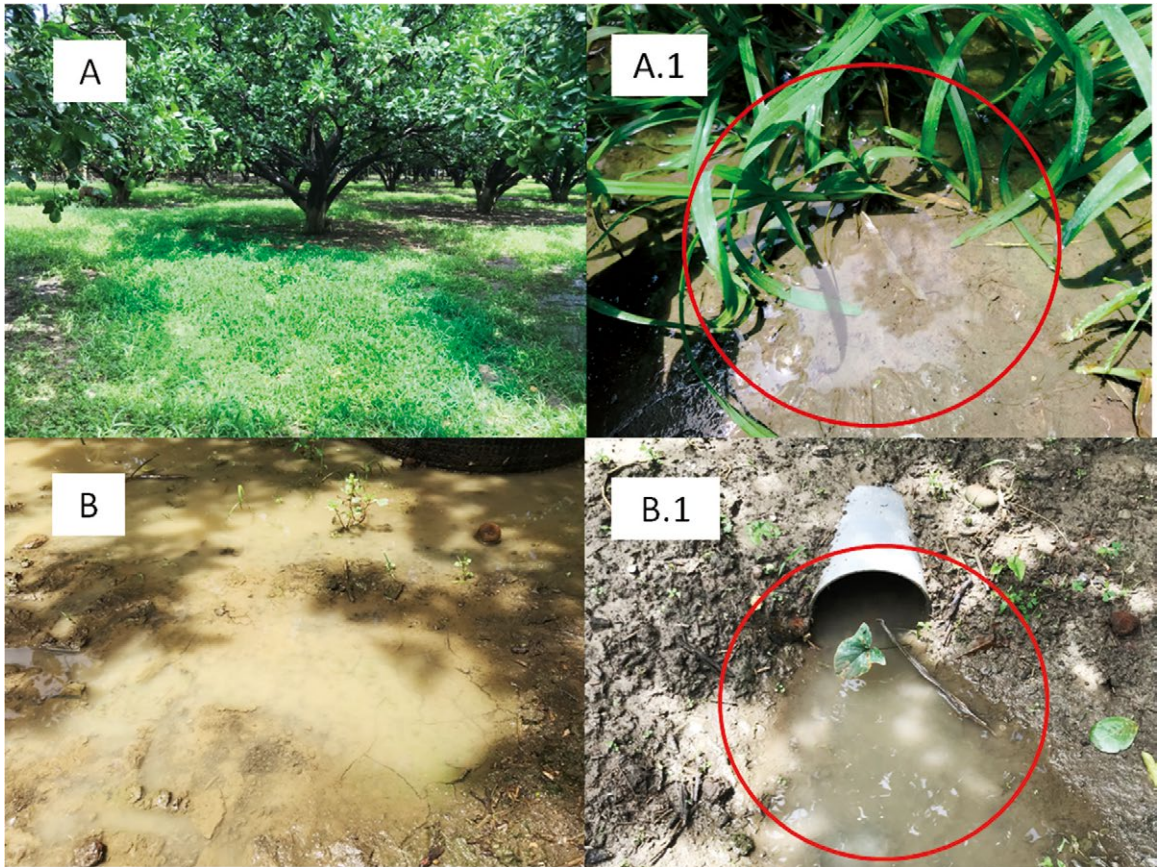
二、實驗室觀察：適用於研究人員實驗室操作，需要精密儀器。

### 評估土壤微生物生質量 (biomass) 或數量

針對微生物特性調製其適合生長的選擇性培養基 (selective medium) 以觀察土壤中微生物的數量。在耕作土壤中具有固氮、溶磷、溶鉀能力 (圖三) 的微生物對於土壤養分循環扮演重要的角色，部分放線菌群



圖一、豆科作物根部常會有共生性根瘤菌共生。共生性根瘤菌透過固氮作用提供作物氮源

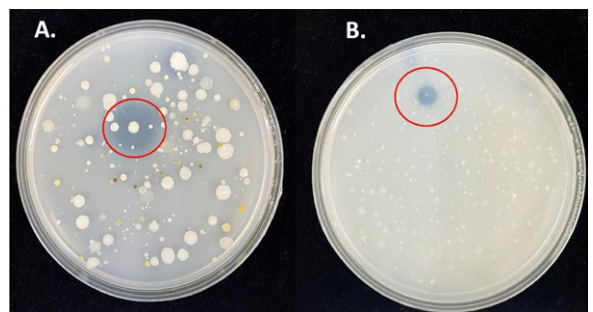


圖二、降雨後可以現地觀察土壤團粒穩定程度：A.草生栽培園區；A.1草生栽培園區積水較為清澈，土壤團粒結構較穩定；B.裸地栽培園區；B.1裸地園區積水較為混濁，土壤團粒結構較不穩定

具有分泌木質素、纖維素及幾丁質的能力，可以促進土壤養分循環。然而培養基法僅能觀察可以被培養的微生物，根據前人研究，1公克土壤中約有1億個微生物，其中僅有0.1~1%可以被培養出來，仍需要搭配其他評估方式完善多樣性評估。

### 評估土壤微生物活性 (activity)

土壤微生物活性代表微生物的生理生化反應，例如礦化作用 (mineralization)、硝化作用 (nitrification) 等，通常可以藉由直接評估或評估潛在能力來了解目前土壤中的微生物活性：



圖三、可培養的土壤微生物 (紅圈處) (A) 溶磷菌 (B) 溶鉀菌

1. 直接評估：以氮礦化作用為例，即在一定的實驗室條件下監測土壤中硝酸氮及銨態氮在土壤中的濃度變化，藉以評估微生物將有機氮礦化為無機氮的能力。微生物活性為



圖四、以螢光二乙酸水解法之呈色強弱評估土壤酵素活性高低 (如蛋白質分解酶、脂質分解酶)



圖五、種植綠肥作物(圖為太陽麻)可以提升土壤微生物多樣性、肥力及土壤有機質

有機質肥料釋放養分速度的因子之一。

2. 評估潛在能力：透過分析土壤中的酵素活性來了解土壤對於養分循環的潛在能力，例如可以評估氧化有機質能力的去氫酶活性 (Dehydrogenase activity) 或是評估蛋白質分解及脂質分解能力的螢光二乙酸水解法 (Fluorescein diacetate hydrolysis)。其中螢光二乙酸水解法反應原理為添加特定物質供土壤微生物分解後，藉由顯示出的螢光綠色強弱 (圖四) 來判斷酵素活性的高低。

### 評估土壤微生物族群結構 (community structure)

土壤微生物間的交互作用相當複雜，同時也容易受到環境變化而改變 (例如澆水、施肥、輪作等)，相較於以培養法觀察不同特性的微生物，土壤微生物族群結構可以觀察到無法在培養基上生長的微生物。而微生物族群結構的多樣性有助於在環境變化時提供緩衝。評估土壤微生物族群結構方法包括群落層次生理圖譜 (Community-level physiological profiling)、磷脂脂肪酸法 (Phospholipid fatty acid method)、變性梯度膠體電泳 (Denaturing gradient gel electrophoresis)、次世代定序法進行評估，以族群生理圖譜及次世代定序為例：

1. 群落層次生理圖譜：藉由土壤微生物利用 31 種碳源 (例如乳糖、木糖、甘露醇等) 後所產生的紫色強弱來評估土壤微生物的多樣性。
2. 次世代定序法：萃取樣品土壤的微生物核酸 (例如細菌或真菌)，以分子生物技術大量複製樣品中的核酸片段，再將核酸片段

進行與核酸資料庫比對及建立樣品中的微生物族群結構。

### 評估植物與微生物之交互作用 (interactions)

作物根系會分泌碳源、有機酸等藉以創造較合適的生長環境，微生物除了受到根分泌物誘發或是抑制，相對的也會影響作物。能協助作物生長的根圈微生物稱為 Plant growth promoting rhizobium (PGPR)，例如豆科作物的根系常會有共生根瘤菌，並且透過固氮作用提供豆科作物氮源、菌根真菌會透過與作物根系共生，藉以協助作物吸收水分、養分及渡過鹽分逆境。

## 如何維持與增加耕作土壤微生物多樣性

隨著氣候變遷及淨零政策的推動，如何增加土壤有機質逐漸受到重視。維護土壤微生物多樣性有助於有機質轉化及固定、土壤養分的有效性、微生物間的拮抗以及作物抵抗逆境能力，以下將介紹田間可操作的方式供各位參考：

1. 施用粗纖維有機質肥料：粗纖維有機質肥料於土壤中較不易分解，長期施用有助於增加土壤有機質；相關研究發現施用粗纖維有機質肥料田區有助於活化分解粗纖維的微生物菌群。
2. 施用微生物肥料：施用微生物肥料有助於導入大量具有特定功能之有益微生物 (例如溶磷菌、溶鉀菌等)，惟施用微生物肥料需每隔一段時間進行追肥，以維持有益微生物族群。
3. 果樹草生栽培：草生栽培草種包括自然草

種、綠肥大豆台南7號、假儉草等。果園草生栽培亦可減緩表面土壤流失、增加土壤有機質。相關資訊可參考本場編寫之果園草生栽培管理技術專刊。

4. 種植綠肥作物及作物殘體回填：以種植豆科綠肥作物 (例如田菁、太陽麻等) 為例 (圖5)，由於根瘤菌會與豆科作物共生，將豆科綠肥作物翻耕進入土壤後，除了提供有機質及氮肥外，亦能活化土壤中具有固氮作用的微生物菌群。作物殘體回填在國內十分常見，前人研究發現將水稻莖桿翻耕進入土壤後，將增加放線菌群的族群數量，而放線菌群又被視為具有拮抗病原菌的指標之一。

## 結語

土壤是活的生命體，是人類賴以生存的資源，無論在農業或生態環境中均扮演重要角色。土壤品質的好壞端賴其功能是否可正常發揮，其中土壤的物理、化學及生物性質即是影響土壤品質之因素。土壤微生物在環境中扮演生態制衡的角色，但因農業耕作中大量農用化學物質的施用、不良灌溉水或栽培耕作方式，經常造成土壤中的微生物相失衡或微生物多樣性下降，導致土壤病害日趨嚴重，加上土壤有機質不易累存，土壤地力發生退化，有益微生物減少，均會對農業生產造成負面效應。多數評估土壤微生物多樣性方法僅用於試驗研究，然而土壤有機質多寡為主要影響因子之一，透過管理土壤有機質除了提升土壤品質、作物品質以外，亦能延緩及對抗氣候變遷。