

利用土壤微生物相分析技術 找尋作物根圈益菌 - 以洛神葵為例

文 / 圖 王誌偉



圖 1. 洛神葵根圈土壤之田間採集情形，將植株拔出後，以毛刷將附著於根表面之土壤刷下，之後將土壤集中於塑膠試管保存。

一、前言

根據 Curtis 等人於 2002 年報告估計，土壤可能含有超過 4 百萬種微生物，Gans 等人於 2005 年則預測 1 公克土壤有超過 1 百萬種不同的細菌。然而，這些微生物有超過 99% 都是無法人工培養的，惟隨著科技的發展，我們卻可以直接萃取土壤中微生物的 DNA，進一步分析微生物的種類與比例。多個研究指出，土壤微生物群對植物有許多益處，包括固氮作用、溶磷、產生植物生長賀爾蒙、防治病害與幫助植物忍受各種逆境等。本研究以臺東轄區特色作物洛神葵為例，藉由比較健康與罹染萎凋病之洛神葵根圈細菌種類，瞭解與洛神葵消長有關的細菌群相，期望對未來病害防治管理資材開發有所助益。

二、步驟與方法

樣本採集

為了增加樣本的數目以達到統計上的意義，本研究之土壤樣本採集自 3 個獨立的洛神葵田區，包括本場、知本與太麻里共 3 個地點，每塊田區分別採集 10 棵健康植株與 10 棵罹染萎凋病病株之根圈土壤（圖 1），共計 60 個土壤樣本以進行後續實驗。

土壤 DNA 萃取

田間採集之土壤樣本先放置於冰桶以冰塊保冷，帶回實驗室後放置於 -80°C 冰箱保存。土壤樣品以 Qiagen 公司出產之強力土壤 DNA 抽取試藥組 (DNeasy power soil kit) 進行 DNA 萃取，萃取後之土壤 DNA 進行瓊脂膠體電泳分析（如圖 2），可看到一個明顯高分子量條帶。

細菌 16S rRNA 基因變異區段 DNA 增幅

每種細菌都有其獨特的 16S rRNA 基因序列，可以視為細菌的身分證，該基因共有 9 個變異區間，依序編號為 V1-V9，總長

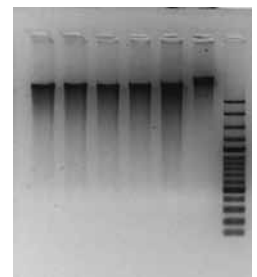


圖 2. 經萃取後之土壤 DNA 進行瓊脂膠體電泳分析結果，可以看到一個高分子量明顯的條帶。

