

茶菌根菌之初步探討¹

曾方明² 陳際松³

摘 要

菌根菌從楊梅茶業改良場二年生青心烏龍園中發現*Cigaspora nigra*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus clarum*及類似*Acaulospora* sp.等四種，二年生青心大有園僅發現*Glomus fasciculatum* 梅山四年生青心烏龍園有*Gloms fasciculatum*及*Gloms mosseae*二種，共計發現五種菌根菌。青心烏龍苗根部染色結果可以觀察到三種菌根菌之構造一細胞內菌絲、叢狀枝及囊狀體三種，但未發現細胞間菌絲。

一、前 言

內生菌根菌 (endomycorrhizal fungi) 係有益之共生菌，常與植物共生並於根系內形成囊狀體 (vesicles)、叢狀枝 (arbuscules) 等特異之構造。一般除在潮濕地面或水生植物根群附近外皆可發現其存在，可見分佈甚廣⁽²⁾。菌根菌侵入植物根部後在外皮層 (cortex) 生長，但不侵入內皮 (endodermis)、中柱 (stele) 或根分生組織 (root meristem)，亦不侵入含有葉綠素之細胞⁽²¹⁾；侵入根後即形成細胞間菌絲 (intercellular hyphae)、細胞內菌絲 (intracellular hyphae)、囊狀體及叢狀枝。囊狀體係養份貯存器官；叢狀枝乃與寄主間養份交換處，功能類似絕對寄生菌之吸器 (haustorium)⁽⁸⁾。在根內除可形成上述各種器官外，更可伸出根外形成游離土壤中之菌絲、厚膜孢子、結合子或孢子果 (sporocarp)；散佈土壤中之菌絲可代替根毛而擴大根之吸收面積⁽²⁹⁾。

菌根菌對植物具下列四點益處：(一)促進無機與有機養份之吸收，(二)抑制根部病原菌，(三)降低土壤毒性，(四)增加植物對乾旱與不適溫度的抗性^(9, 10, 16, 27, 28)。其中對促進無機鹽類之吸收研究最多，尤其對促進磷肥之吸收有良好效果，因植物體中磷肥含量低則根細胞膜之滲透性增強，從根中滲出之物質如醣類、氨基酸可促進土壤中菌根菌孢子發芽，增加根部之侵入率；但磷肥過多則會阻碍菌根之形成，因根中含磷過多則滲透性降低，根分泌物減少，不利菌根菌孢子發芽、感染^(20, 23, 24, 32)降低根部侵入率。菌根菌之共生能力，依寄主與菌類之不同而有所差異⁽¹⁷⁾，Baylis⁽⁶⁾ 提出一個假說 (hyposis)，根毛少之植物如柑桔等較需要菌根菌之共生；反之，根毛多之植物如小麥等較不需要菌根菌共生。El-Giahmi 等人⁽¹²⁾ 指出適合植物形成菌根之環境因子為高溫、缺磷、沙質土、腐植質少與雨量稀少。遮陰⁽¹⁹⁾、農藥⁽²⁷⁾、高肥分、空氣污染⁽²⁸⁾ 與水分過多⁽²⁾則不利植物形成菌根。

1. 本計劃承農發會 73 農建-2.1 一產-51-(5) 計劃經費補助。

2, 3 臺灣省茶業改良場助理、助理研究員。臺灣省 桃園縣 楊梅鎮。

菌根菌可以降低土壤傳播性真菌或線蟲所引起之根部病害⁽¹¹⁾，Schenk等⁽³⁵⁾更指出內生菌根菌利用於土壤真菌性病害之生物防治上頗具潛力；對葉部病害或毒素病而言，則會因菌根菌之共生而增加植物體的運輸作用使發病程度更趨嚴重⁽¹¹⁾。雖然如此，一般抗病之植物即使有菌根菌共生，仍然表現抗病性，感病性植物則會因菌根菌之寄生而增加其感病性⁽¹¹⁾。

目前本省對一般作物的菌根菌研究甚多，胡⁽¹⁾以 *Glomus fasciculatus* 接種在臺灣杉等五種盆栽苗木，發現接種者較未接種者生長良好。楊等⁽⁴⁾接種 *Glomus fragilis* 及 *G. fasciculatus* 於溫室大豆盆栽，依不同土壤種類及接種菌類不同可增加豆莢產量達7%至45%之多。程、杜⁽³⁾調查發現 *Glomus clarum* 普遍存在於大豆田中，接種 *G. clarum* 於大豆盆栽中可以增加豆莢產量；亞蔬中心⁽²⁶⁾利用 *G. fasciculatus* 接種在二期水稻田不整地栽培之大豆田 (no-tillage rice-stubble field) 後，不但可節省肥料及農藥之使用，同時可增加豆莢產量並改進大豆農藝性狀，是一種有效增加大豆產量之栽培方法。

有關茶樹菌根菌之研究，1939年時Butler⁽⁷⁾提及茶中有菌根菌之共生。至1975年日人⁽⁵⁾開始從事此方面之初步調查，顯示茶根共生菌根菌多屬 *Glomus* sp.，土壤中之孢子全年以五月份最多，根中孢子量則以六月份最多，菌根之分佈深度以0~10公分為最多。茶樹多生長在貧瘠的土壤中，且根毛甚少，由前人研究結果推測菌根菌對茶樹之生長應有效益。本試驗之目的有二，一係調查茶園中內生菌根菌之分佈情形，其次調查茶樹菌根之形成情形。

二、材料與方法

(一) 土樣採取方法：

每一茶園取對角線之交叉點及每股之二分之一處等五點，深度0~20公分，將土壤及茶根一起挖取，每一點挖土100克，五點之土壤均勻混在一起。

(二) 採樣地點：

1. 楊梅茶業改良場二年生青心烏龍、二年生青心大冇之茶園。
2. 梅山四年生青心烏龍茶園。

(三) 土壤中菌根菌孢子之篩取法：

依篩網傾注法 (wet-sieving and decanting method)⁽¹⁵⁾ 稱取土樣100克，置於1000ml之燒杯中加水約1000ml，玻棒攪拌後靜置3~5秒即傾入420 μ m、300 μ m、250 μ m、210 μ m及117 μ m網目之網篩中，連續篩四次後，將網篩上之土壤分別洗集於直徑9公分之培養皿中，用解剖顯微鏡觀察，若有菌根菌之孢子則用吸管吸取孢子置於Ringer's solution⁽¹³⁾ 放4℃中保存。

(四) 菌根菌孢子之鑑定：

詳細記錄各種孢子大小、顏色及形態，並依Trappe⁽³⁶⁾之“Synoptic keys to the genera and species of Zygomycetous mycorrhizal fungi”與Gerdemann⁽¹⁸⁾之“The Endogonaceae in Pacific Northwest”上之鑑定方法逐一鑑別。

(五) 根部菌根菌之觀察：

將二年生青心烏龍苗之根挖起，洗淨切成長1公分大小，依Phillips & Hayman⁽³¹⁾之方法，置於10% KOH中90℃加熱2小時，再用KOH沖洗數次，浸入20℃之鹼化H₂O₂，至茶根變白為止，然後用水除去H₂O₂，再以5% HCl酸化，去除HCl後用0.05% trypan blue染色5分鐘，用lactophenol除去過多染料，置於顯微鏡下觀察。

三、結果與討論

(一) 茶園土壤中菌根菌之種類：

菌根菌從楊梅茶業改良場二年生青心烏龍園土壤中發現 *Gigaspora nigra*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus clarum* 及類似 *Acaulospora* sp. 等四種，二年生青心大冇園發現 *Clomus fasciculatum*；梅山四年生青心烏龍園有 *Glomus fasciculatum* 及 *Glomus mosseae* 二種。共計發現五種菌根菌，依其大小、形態詳述如下：

1. *Gigaspora nigra*：

厚膜孢子（圖一，A）黑色、球形，表面具痘痕（pitted），直徑為 $414 \sim 430 \mu m$ ；孢子尾端附 suspensorlike cell，褐色至黑色；附屬菌絲淡黃褐色；孢子單獨存在土壤中。依 Trappe⁽³⁶⁾ 之 synoptic keys 鑑定結果屬於 *Gigaspora nigra* Nicol & Schenck。

2. *Glomus fasciculatum*：

厚膜孢子（圖一，B）未成熟時淡黃褐色，成熟時深黃褐色；球形、表面平滑，孢子直徑 $70 \sim 96 \mu m$ ；孢子膜褐色，厚度 $9.4 \sim 14.1 \mu m$ ；與孢子連接之菌絲淡黃褐色；孢子閉合方式（closure at spore wall）系孢子細胞壁變厚後癒合在一起（occlusion by spore wall thickening）；具孢子果（sporocarp），田間篩到之孢子果由許多孢子及附着於其上之菌絲疏鬆聚在一起，孢子呈不規則性（random）排列，每一孢子果中之孢子數目約 $10 \sim 20$ 個，整個孢子果呈褐色。依 Trappe⁽³⁶⁾ 之 synoptic keys 鑑定結果屬於 *Glomus fasciculatum* (Thaxter sensu Gerd.) Gerd & Trappe。

3. *Glomus mosseae*：

孢子（圖一，C）球形、黃色、表面平滑，直徑 $400 \sim 445 \mu m$ ；具二層膜，外層膜淡黃褐色，內層膜黃色；孢子內容物無色、油狀；附於孢子之菌絲其靠近孢子部份膨大呈漏斗狀，最大直徑 $5 \sim 6 \mu m$ ，黃色。依 Trappe⁽³⁶⁾ 之 synoptic keys 鑑定屬於 *Glomus mosseae* (Nic. & Gerd.) Gerd. & Trappe。

4. *Glomus clarum*：

孢子（圖一，D）球形、白色、表面平滑，直徑 $150 \sim 200 \mu m$ ，內有許多油球；只有一層膜無色；附於孢子上之菌絲組織鬆散，直徑 $25 \mu m$ 。依 Trappe⁽³⁶⁾ 之 synoptic keys 屬於 *Glomus clarum* Nicol. & Schenck。

5. *Acaulospora* sp.：

孢子球形、白色，無附着菌絲，只具一層膜，內具透明油球，類似 *Acaulospora* sp. 但土壤中所篩到的孢子均未見 collapsing attached hyphae，故尚無法確定是否屬於 *Acaulospora* sp.，有待篩取更多量孢子做進一步之鑑定工作。

日本有關菌根菌之報告⁽⁶⁾ 未能鑑定其種名，本試驗已由三個地點的茶園土壤中篩到五種菌根菌並鑑定其學名。本省茶園中除此五種外是否有其他種類菌根菌孢子，此等孢子是否確能侵入茶根造成叢狀枝及囊狀體，對茶樹之生長影響等問題，有待進一步之研究。

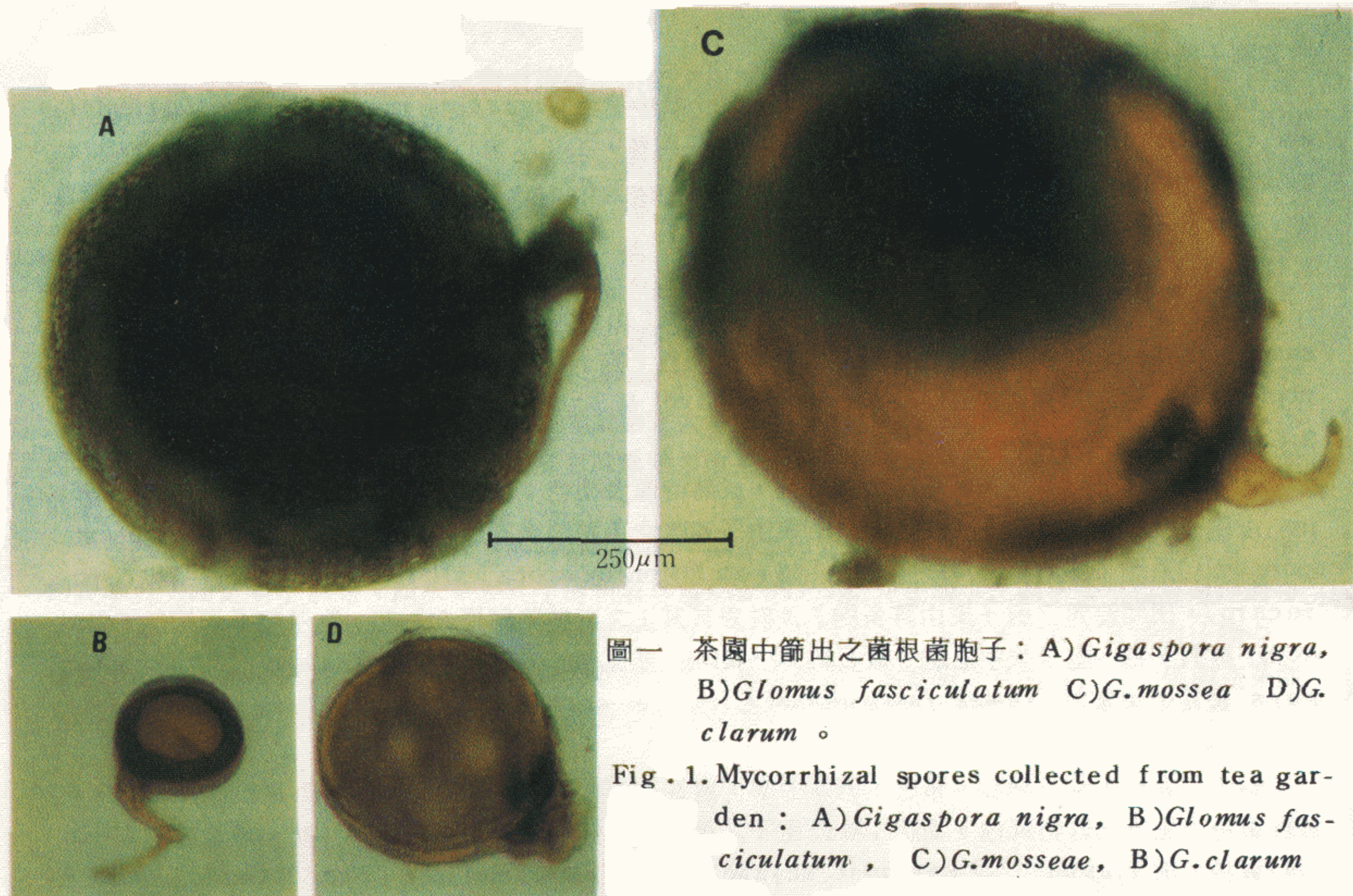
(二) 侵入茶根部之菌根菌觀察：

青心烏龍茶根經透化及染色結果可以觀察到三種菌根菌之構造——細胞內菌絲、叢狀枝及囊狀體。

細胞內菌絲（圖二，A(i)）粗而捲曲盤據細胞中，有些菌絲完全充滿整個細胞；尚未發現細胞間菌絲。一般菌根菌侵入寄主後依寄主不同可形成細胞內及細胞間菌絲，受 *G. fasciculatus* 感染的臺灣杉及香杉大都形成細胞內菌絲；少有細胞間細絲；而鵝掌楸（tuliptree）僅產生細胞內菌絲；惟在玉米、紅檜、臺灣扁柏及臺灣肖楠則形成甚多細胞間菌絲^(1, 17)。

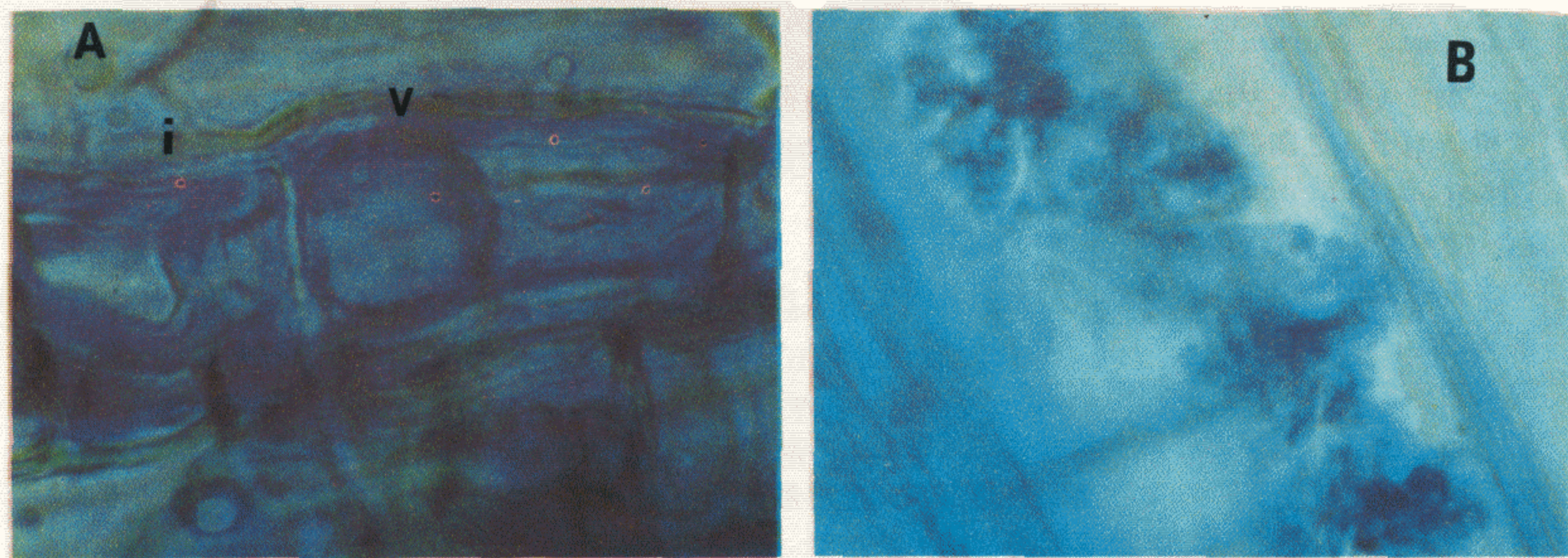
根部觀察到之叢狀枝構造似正在瓦解中（圖二，B），Kaomi等⁽²⁴⁾ 報告指出叢狀枝之生命非常短，其小枝直徑在 $1 \mu m$ 以內，無法以光學顯微鏡觀察⁽¹⁴⁾。亦可見圓形囊狀體（圖一，A(v)），乃貯藏養份之構造⁽⁸⁾；在茶根中不易觀察到叢狀枝或囊狀體。據研究報告^(25, 30, 33, 34) 指出叢狀枝於寄主行營養生長時較多，囊狀體於寄主行生殖生長時數目較多。

由以上初步觀察結果，茶根共生菌根菌之感染率並不高，尤其叢狀枝及囊狀體極不易發現，此可能由於茶根含有色素而不易透化染色，或因品種間及季節差異所致。



圖一 茶園中篩出之菌根菌孢子：A) *Gigaspora nigra*, B) *Glomus fasciculatum* C) *G. mossea* D) *G. clarum*。

Fig. 1. Mycorrhizal spores collected from tea garden : A) *Gigaspora nigra*, B) *Glomus fasciculatum*, C) *G. mosseae*, B) *G. clarum*



圖二 菌根菌在青心烏龍根部中形成之構造：A)細胞內菌絲(i)及囊狀體(v)；B)叢狀枝(沈良玉攝)。

Fig. 2. Mycorrhizal structures formed in roots of Chin-Shin-Oolong: A) intracellular hyphae (i) and vesicle (v) ; B) arbuscule (Photo. by L.Y. Shen).

誌 謝

試驗期中承台灣大學曾博士顯雄、陳博士瑞青及中興大學楊博士秋忠提供寶貴意見；邱場長再發、余課長贊粉、林課長品才之鼓勵；文成並蒙屈技正先澤及曾博士顯雄悉心批改；古梅玉、黃廷桂小姐協助試驗，在此謹致最誠摯的感謝。

參考文獻

1. 胡弘道・1981・臺灣高海拔重要針葉樹種內生菌根菌之研究・國立臺灣大學農學院研究報告 21:113~134。
2. 曾顯雄、黃芸修・1980・淺談內生菌根菌——植物的益友・國立臺灣大學植物病蟲害學刊 7:27~30。
3. 程永雄、杜金池・1982・大豆內生菌根菌及其與寄生性線蟲關係之調查・臺南區農業改良場研究彙報 16:45~49。
4. 楊秋忠、莊作權、郭鴻裕、趙震廣・1983・囊狀體—叢狀枝菌根菌對大豆生長及利用土壤磷素之研究・土壤肥料通訊 1:15。(論文宣讀摘要)
5. 農林省茶業試驗場・1975・2. 內生菌根と耐ハダニ性(マミノ酸バランス)について 農林省茶業試驗場害 試驗成績書, pp.40-49・農林省茶業試驗場編。
6. Baylis, G.T.S. 1970. Root hairs and Phycomycetous mycorrhizas in phosphorus deficient soil. *Plant and Soil* 33:713-716.
7. Butler, E.J. 1939. The occurrences and systematic position of the vesicular-arbuscular type of mycorrhizal fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 22:274-301.
8. Carling, D.E. and M.F. Brown. 1982. Anatomy and physiology of vesicular-arbuscular and nonmycorrhizal roots. *Phytopathology* 72:1108-1114.
9. Davis, R.M., J.A., Menge. and D.C. Erwin. 1979. Influence of *Glomus fasciculatus* and soil phosphorus on *Verticillium* wilt of cotton. *Phytopathology* 69:453-456.
10. Davis, R.M., J.A. Menge, and G.A. Zentmyer. 1978. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on *Phytophthora* root of three crop plants. *Phytopathology* 68:1614-1617.
11. Dehne, H.W. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology* 72:1115-1119.
12. El-Giahmi, A.A., T.H. Nicolson, and M. J. Daft. 1976. Endomycorrhizal fungi from Libyan soil. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 67:164-169.
13. Furlan, V. and J.A. Fortin. 1975. A flotation-bubbling system for collecting Endogonaceae spores from sieved soil. *Nat. Canad.* 102:668-667.
14. Galland, I. 1905, Études sur les mycorhizes endotrophes. *Rév. Cén. Botan* 17:5-48, 66-85, 123-36, 223-39, 313-25, 423-33, 479-500.
15. Gerdemann, J.W. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet-sieving and decanting. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 46:235-244.
16. Gerdemann, J.W. 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phytopathol.* 6:397-418.
17. Gerdemann, J.W. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. *In The Development and Function of Roots*, pp. 575-591. Acad. Press.
18. Gerdemann, J.W., and J.M. Trappe. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest, 76pp.. The New York Botanical Garden, Bronx, New York, U.S.A..
19. Graham, J.H. and R.T. Leonard. 1983. Interaction of light intensity and soil temperature with phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *New Phytol.* 91:683-690.
20. Graham, J.H., R.T. Leonard and J.A. Menge. 1981. Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscu-

- lar mycorrhiza formation. *Plant Physiology* 68:548-522.
21. Janse, J.M. 1897. Les endophytes radicaux de quelques plantes Javanaises *Ann. Jard Bot. Buitenz.* 14:53-212.
 22. Jensen, A. 1982. Influence of four vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on nutrient uptake and growth in barley (*Hordeum vulgare*). *New Phytol.* 90:45-50.
 23. Johnson, C.R. 1982. Effect of flower bud development in *Chrysanthemum* on vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *New Phytol.* 90:671-675.
 24. Kaomi, K. and R. Toth. 1981. Ultrastructure of the mycorrhizal association formed between *Zea diploperennis* and *Glomus fasciculatus*. *Mycologia* 73:1027-1039.
 25. Khan, A.G. 1975. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal association on growth of cereals. II. Effect on wheat growth. *Annals of applied Biology* 80:27-36.
 26. Kuo, C.G. and R.S. Huang. 1982. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on the growth and yield of rice-stubble cultured soybeans. *Plant and Soil* 64:325-330.
 27. Menge, J.A. 1982. Effect of soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology* 72:1125-1132.
 28. McCool, P.M., J.A. Menge and O. C. Taylor. 1979. Effects of Ozone and HCl gas on the development of the mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatus* and Growth of 'Troyer' citrange. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104:151-154.
 29. Nicolson, T.H. 1959. Mycorrhiza in the gramineae. I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 42:421-438.
 30. Ocapmo, J.A. and D.S. Hayman. 1981. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. II. crop rotations and residual effects of non-host plants. *New Phytologist* 87:333-343.
 31. Phillips, J.M. and D.S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 55:158-161.
 32. Raynayake, M., R.T. Leonard and J.A. Menge. 1978. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytologist* 81:543-552.
 33. Saif, S.R. 1977. The influence of stage of host development on vesicular-arbuscular mycorrhizae and Endogonaceous spore populations in field-grown vegetable crops. I. Summer-grown crops. *New Phytologist* 79:341-348.
 34. Saif, S.R. and A.G. Kham. 1975. The influence of season and stage of development of plant on *Endogone* mycorrhiza of field grown wheat. *Can. J. Microbiol.* 21:1020-1024.
 35. Schenck, N.C. and M.K. Kellam. 1978. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on disease development. *Bull. 799 Florida Agric. Exp. Station* 798:1-16.
 36. Trappe, J.M. 1982. Synoptic keys to the genera and species of Zygomycetous mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72:1103-1108.

THE PRILIMINARY INVESTIGATIONS OF TEA MYCORRHIZAL FUNGI

Fang-Ming Thseng¹ and Jee-Song Chen²

Totally five species of endomycorrhizal fungal spores were extracted from tea garden. The occurrence of these endomycorrhizal fungi were varies, for instances, *Gigaspora nigra*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus clarum* and *Acaulospora*-like sp. were found in the Chin-Shin-Oolong tea garden, and *Glomus fasciculatum* in Chin-Shin-Tai-Pan tea garden belonging to Taiwan Tea Experiment Station. In contrast, *Glomus fasciculatum* and *Glomus mosseae* were found in the Chin-Shin-Oolong tea garden of Mei-Shan.

In the roots of 2 years-old Chin-Shin-Oolong tea garden, which has been bleached and stained, the intracellular hyphae, arbuscules and vesicles were visible. However, the intercellular hyphae were not yet found.

-
1. Research Assistant, Department of Extension. Taiwan Tea Experiment Station, Yangmei, Taoyuan Hsien, Taiwan, 326, R.O.C.
 2. Assistant Plant Pathologist, Department of Tea Agronomy, Taiwan Tea Experiment Station Taoyuan Hsien, Taiwan, 326, R.O.C.