

臺灣石灰岩廢棄礦區叢枝菌根菌共生關係研究

Study on the symbiotic relationship of arbuscular mycorrhizal fungi in abandoned limestone mining areas in Taiwan

林子超* 朱恩良 陳建名

Tzu-Chao Lin*, En-Liang Chu and Chien-Min Chen

行政院農業委員會特有生物研究保育中心 55224 南投縣集集鎮民生東路1號

Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

*Corresponding author: super@tesri.gov.tw

*通訊作者：super@tesri.gov.tw

摘要

礦區開採造成土壤物理及化學性質的遽烈改變，致使植生回復不易。研究指出菌根菌與植物共生能提高植物對不良生育環境的適應能力，加速植生回復。本研究調查臺灣東部及西部各2處廢棄礦區，探討石灰岩基質植生回復地土壤中菌根菌組成，建立石灰岩地型特殊棲地菌根菌組成基本資料。調查結果顯示東部蘇澳與花蓮兩處樣區植生共生真菌並無明顯差異，以 *Acaulospora spinosa*, *Acaulospora kentinensis*, *Diversispora spurca* 及 *Septoglomus deserticola* 為優勢菌種，西部關西及大崗山二處樣區之共生真菌則有明顯差異，關西樣區以 *Septoglomus constrictum*, *Glomus versiforme* 與 *Paraglomus occultum* 為優勢菌種，而大崗山樣區則是以 *Ambispora granatensis* 及 *Claroideoglomus claroideum* 為優勢菌種，其中 *Ambispora granatensis* 是首次於台灣發現的新紀錄種。藉由菌根菌接種試驗更進一步證實菌根菌確實有助於植物生長於不良的生育地。

關鍵詞： 菌根、石灰岩礦區

Abstract

Mining causes severe changes in the physical and chemical properties of the soil, and leads to difficulty in plant recovery. Studies have pointed out that mycorrhizal fungi can improve the ability of host plants to adapt to poor growth condition and enhance the efficiency of vegetation recovery. This study investigated two abandoned mining areas in eastern and western Taiwan to explore the mycorrhizal fungi composition in reforestation sites on limestone, and established basic data of the mycorrhizal fungi composition of the special habitat. Results showed that there was no significant difference in mycorrhizal fungi composition between Suao and Hualien plots, *Acaulospora spinosa*, *Acaulospora kentinensis*, *Diversispora spurca*, and *Septoglomus deserticola* were the dominant species there. In western Taiwan there was a significant difference in mycorrhizal fungi composition between Guanxi and Dagangshan plots. *Septoglomus constrictum*, *Glomus versiforme* and *Paraglomus occultum* were the dominant species in the Guanxi plots, while *Ambispora granatensis* and *Claroideoglomus claroideum* were the dominant species in the Dagangshan plots. It was the first time for *Ambispora granatensis* to be recorded in

Taiwan. The inoculation experiment further confirmed that mycorrhizal fungi indeed help plants grow in degraded habitat.

Key words: mycorrhiza, limestone quarries

收件日期：2020年03月19日

Received: March 19, 2020

接受日期：2020年06月02日

Accepted: June 02, 2020

前言

臺灣的石灰岩礦主要分布於花蓮地區、蘇澳宜蘭地區及本島西部之半屏山、大崗山等地，其土壤通常呈鹼性(pH 7.3-8.7)，土壤酸鹼度與含石率過高，對於植物養分的吸收與新陳代謝皆產生不利的影響，僅有部分生理機制及對此極端環境擁有較高耐受性之植物可以生存於此，而石灰岩礦區經開採後移除大面積的原有植被、土壤，造成岩層裸露、地形水文改變及礦場棄土等問題甚為嚴重，植生歷經數十年亦不易回復。根據林蚊嬪(1988)研究指出世界上第一處進行礦區復育的例子，是法國肖蒙山丘公園(Parc des Buttes-Chaumont)，該地區原為法國十八世紀以來重要的石灰岩採石場，廢棄後重建為公園。臺灣在1980年代開始重視地表採礦跡地的整復工作，其管理重點為水土保持及景觀綠化。叢枝菌根菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)於4.6億年前的奧陶紀(Ordovician Period)即與植物形成密切關

係(Stürmer 2012)，最新的分類系統將其置於毛黴菌門(Mucoromucota)下之繡球菌亞門(Glomeromycotina)(Spatafora *et al.* 2016)，陸域生態系統中，約有80%以上的植物種類可與AMF形成菌根(Wang and Qiu 2006)互利共生，提升宿主適應逆境的能力，影響地上部植物的消長，對於整個生態系的運作，有著不容忽視的地位，在國外已有許多藉由菌根菌接種來提高礦區跡地植生回復的研究(Püschel *et al.* 2007; Rapai *et al.* 2016)，國內相關資料則明顯不足。本研究擬調查廢棄礦區石灰岩基質上，植群根圈土壤中菌根菌組成差異，除了建立石灰岩地質特殊棲地菌根菌組成基本資料外，並藉由菌根菌接種試驗，了解菌根菌對植生回復的影響。

材料與方法

一、土壤取樣

本研究於2016年3月至2017年12月期間進行臺灣東部及西部各二處石灰岩廢棄礦

區植物叢枝菌根菌調查，東部樣區取蘇澳圳頭坑溪礦場(24.557211 121.843223) (pH 7.3 - 8.5)、花蓮秀林鄉大濁水礦場(24.315192 121.711241) (pH 7.3-8.3)兩處；西部樣區取新竹關西赤柯山礦場(24.746812 121.225348) (pH 7.6-8.7)、高雄田寮大崗山礦場(22.848378 120.352525) (pH 7.6-8.6)。於每處樣區選取鄰近區域植群根系土壤12份，共計48份樣本。

二、菌種分離及鑑定

於實驗室將野外採集的土壤樣本秤取100g土壤樣本後，以濕篩傾倒法(Gerdemann and Trappe 1974)和糖液離心法(Daniels and Skipper 1982)分離孢子後，在解剖顯微鏡下計算孢子數量並挑取孢子，以Polyvinyl alcohol-lactic acid-glycerol (PVLG) (Koske and Tessier 1983)包埋劑製作成半永久玻片，以利於孢子的鑑定與標本之保存。孢子的鑑定與資料之記錄則採Schenck and Pérez (1990)所建議的步驟進行。

三、菌根菌接種試驗

為探討菌根菌對石灰岩基質廢棄礦區植物生長之影響，本研究以石灰岩礦區復舊常用造林樹種臺灣赤楊(*Alnus formosana*)接種各樣區分離培育之優勢菌種進行接種試驗，評估叢枝菌根菌對臺灣赤楊生長之影響。試驗用臺灣赤楊苗木以採取自赤柯山樣區(24.746812 121.225348)臺灣赤楊種子，經表面消毒播種培育於滅菌(121 °C, 1.2 kg/cm²)河砂，苗高達 2 cm 後移植於18 公分穴植管，穴植管內介質為經

高溫高壓滅菌處理之蘇澳圳頭坑溪礦場土壤，同時進行不同菌種接種處理，接種源為純化培育之叢枝菌根菌孢子。第1種處理接種蘇澳圳頭坑溪礦場優勢菌種 *Acaulospora spinosa*及 *Ac. kentinensis*，每一菌種各30顆孢子；第2種處理接種高雄田寮大崗山礦場優勢菌種 *Ambispora granatensis*及 *Claroideoglosum claroideum*，每一菌種各30顆孢子；第3種處理接種分離培育自非石灰岩基質土壤之臺灣廣泛分布菌種 *Ac. morrowiae* 30顆孢子；第4種處理為未接種菌根菌處理之對照組。每種處理6重複，8 個月後量測其植株高度及染根觀察。盆鉢試驗於農委會特有生物研究保育中心網室內進行，以避免試驗期間其它因子之干擾。試驗數據以SPSS 進行單因子變異數分析(one-way ANOVA)，並以最小顯著差異法(Least Significant Difference method)(LSD) 分析各變數平均值間之差異。

結果

一、石灰岩廢棄礦區菌根菌組成：

土壤樣本經分離鑑定共記錄11屬19種叢枝菌根菌(如表1)，全臺4處樣區以關西赤柯山樣區菌根菌種類組成多樣性最高，共記錄8屬12種叢枝菌根菌，且單位土壤孢子總數亦最高，12份樣本共記錄1069顆孢子，孢子組成由 *Septoglosum constrictum* 形成優勢。高雄田寮大崗山樣區菌根菌種類組成多樣性最低，共記錄6屬6種叢枝菌根菌，12份樣本共記錄922顆孢子，孢子組成由

表1. 臺灣石灰岩廢棄礦區叢枝菌根菌孢子組成

Table 1. Arbuscular mycorrhizal fungi spores composition in abandoned limestone quarries of Taiwan

AMF	Suao plots	Hualien plots	Guanxi plots	Dagangshan plots
<i>Acaulospora delicata</i>		1		
<i>Acaulospora spinosa</i>	66	30	38	3
<i>Acaulospora morrowiae</i>		2	7	
<i>Acaulospora mellea</i>			2	
<i>Acaulospora tuberculata</i>		1		
<i>Acaulospora kentinensis</i>	371	12	29	
<i>Ambispora granatensis</i>				373
<i>Claroideoglopus claroideum</i>				485
<i>Claroideoglopus etunicatum</i>	5	16	29	
<i>Diversispora spurca</i>	52	63	8	
<i>Glomus deserticola</i>	93	161	28	5
<i>Glomus versiforme</i>			94	
<i>Paraglopus occultum</i>	4		82	
<i>Rhizophagus intraradices</i>				4
<i>Racocetra gregaria</i>	1			
<i>Sclerocystis rubiformis</i>			46	
<i>Scutellospora calospora</i>		2	8	
<i>Scutellospora fulgida</i>	1	3		
<i>Septoglopus constrictum</i>	2	2	698	52
Total number of species	9	11	12	6
Total number of spores	595	293	1069	922
Simpson's diversity index	0.567	0.636	0.555	0.556

*Ambispora granatensis*及*Claroideoglopus claroideum* 形成優勢，2菌種孢子總數佔總孢子數達93%。若是以Simpson歧異度指數(Simpson's diversity index)評估全臺4處樣區，則是以花蓮秀林鄉大濁水樣區物種組

成歧異度最高，其餘3處樣區物種組成歧異度差異不大(表1)。

若以菌種分布來看，*Acaulospora delicata*、*Acaulospora tuberculata*、*Racocetra gregaria*及*Scutellospora fulgida*

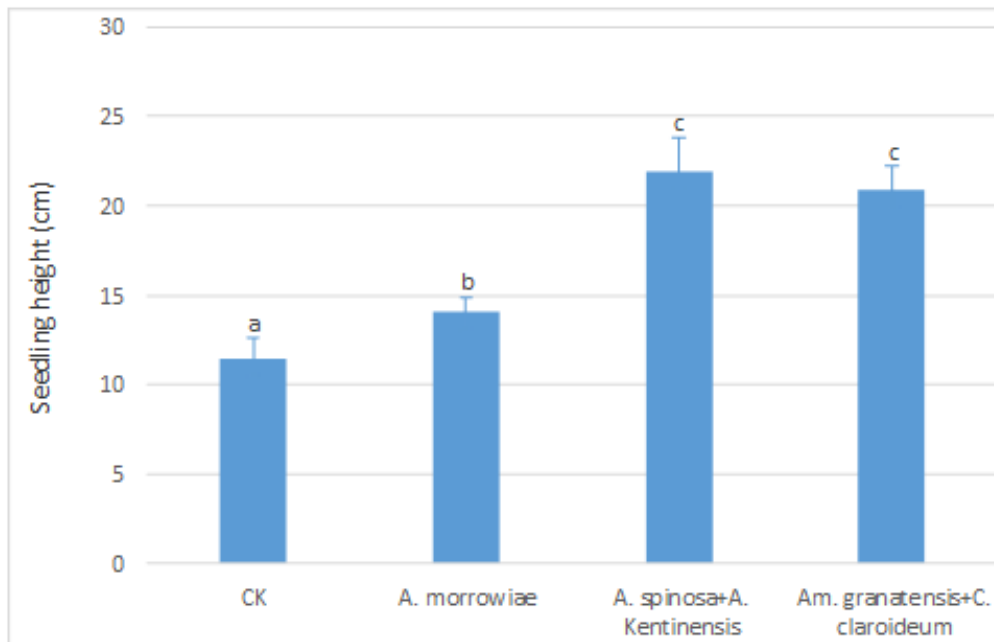
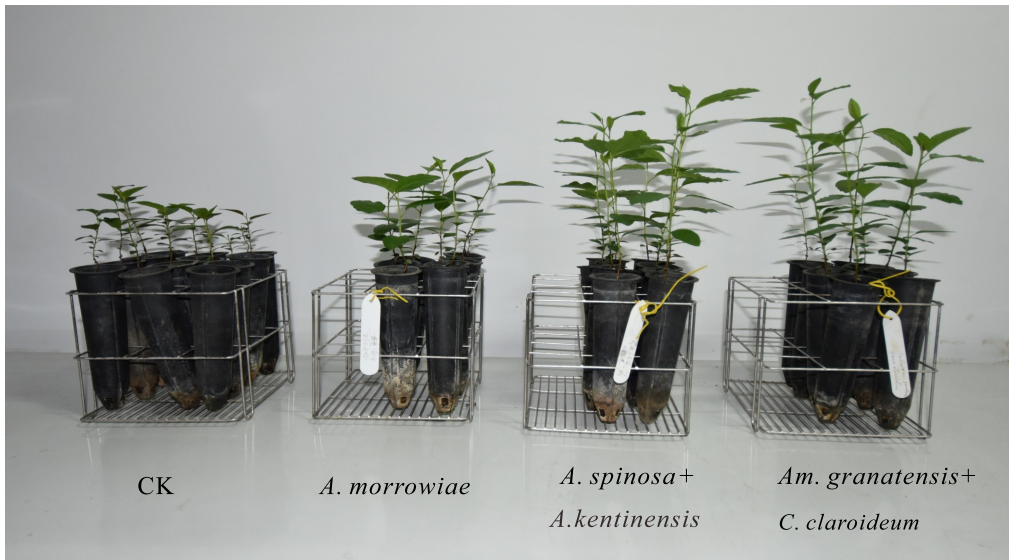


圖1. 臺灣赤楊接種菌根菌8個月後苗高差異。

Fig. 1. Height (cm) of *Alnus formosana* inoculated with mycorrhizal fungi after eight months. Bars and lowercase letters at the column head indicate that the means differed significantly (LSD, $P < 0.01$).

僅分布於東部樣區，*Acaulospora mellea*、*Ambispora granatensis*、*Claroideoglossum claroideum*、*Rhizophagus intraradices*及*Sclerocystis rubiformis*僅分布於西部樣區，其餘菌種在東西部樣區均有發現。

二、臺灣赤楊接種菌根菌試驗：

本研究將菌根菌孢子分離純化培育後進行臺灣赤楊接種試驗，接種8個月後進行苗木高生長量測，實驗結果顯示接種*Acaulospora spinosa*及*Ac. kentinensis*處理組與接種*Ambispora granatensis*及*Claroideoglossum claroideum*處理組之臺灣赤楊有最佳之高生長，接種臺灣廣泛分布菌種*Ac. morrowiae*之臺灣赤楊生長表現次之，但在統計上均顯著優於未接種菌根菌之對照組臺灣赤楊。(圖1)

三、石灰岩礦區叢枝菌根菌新紀錄種：

Ambispora granatensis Palenzuela, Ferrol & Oehl

此菌最早發現於西班牙一處蘆筍(*Asparagus officinalis*)田中(Palenzuela *et al.* 2011)，孢子單生於土壤中，不形成孢子果，可同時產生兩種型態孢子；類無柄孢子(acaulosporoid spores)顏色為透明、白色至淡黃色，呈球形至近球形。直徑90-160 μm ，孢子表面留存產孢囊泡(sporiferous saccule)柄延伸形成的短梗(pedicel)脫落痕，孢子破裂後形成3壁群，外壁群(OW)具3層壁，第1層壁(OW1)透明至白色，老熟孢子則呈淡黃色，此層壁表面具乳突狀細小顆粒，第2層壁(OW2)透明至白色，厚0.5-

1.5 μm ，第3層壁透明(OW3)，厚0.5 μm ，與第2層壁緊密貼合不易分離。中間壁群(MW)具2層壁，第1層壁(MW1)呈透明至白色，厚1.5-2.5 μm ，第2層壁(MW2)呈透明至白色，厚1-2 μm ，緊密貼合第1層壁，中間壁群質脆，於輕壓蓋玻片時易碎裂成不規則片狀。內壁群(IW)具3層壁，第1層壁(IW1)透明至白色，厚0.5-1 μm ，與Melzer's試劑反應呈淡黃色，但於PVLG封片數個月後逐漸退至透明，第2層壁(IW2)透明至白色，緊密貼合第1層壁，厚2-3 μm ，第3層壁(IW3)透明，緊密貼合第2層壁，厚0.5 μm 。類繡球孢子(Glomoid spores)透明，球形至近球形，直徑40-70 μm ，具兩層壁，第1層壁透明，厚0.5-1 μm ，隨孢子老熟漸呈淡黃，最後逐漸消失。第2層壁透明，厚1-2 μm 。(圖2)

討論

本研究進行臺灣主要石灰岩廢棄礦區叢枝菌根菌調查共記錄11屬19種叢枝菌根菌，調查發現關西赤柯山廢棄礦區復舊造林地以臺灣赤楊及相思樹(*Acacia confusa*)生長狀況最好，經採集根段樣本進行染根實驗，發現其根系均與叢枝菌根菌形成共生，菌種組成多樣性最高，共記錄8屬12種叢枝菌根菌，且單位土壤孢子總數亦最高。而高雄大崗山樣區以速生樹種大葉桉(*Eucalyptus robusta*)、印度紫檀(*Pterocarpus indicus*)及直幹相思樹(*Acacia mangium*)為主要造林樹種，生長狀況良好，然而共生菌根菌多樣性明顯較低，共

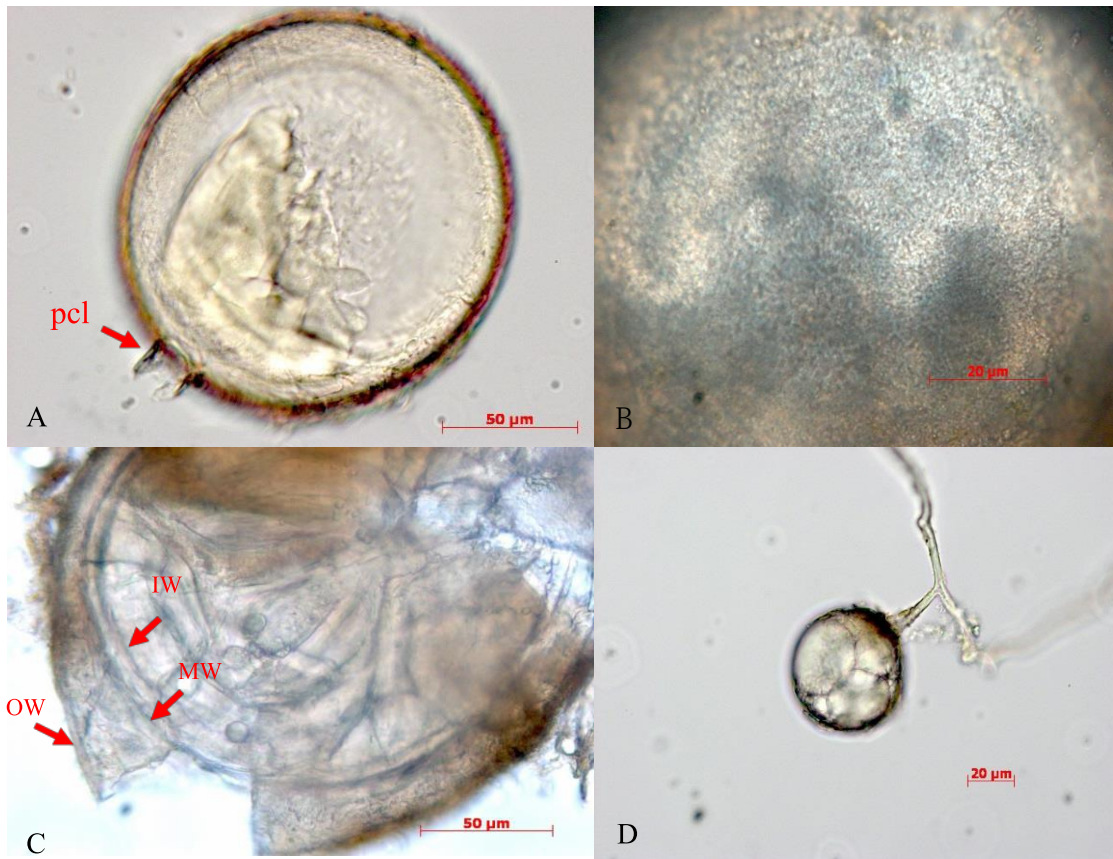


圖2. 新紀錄種 *Ambispora granatensis*。A: 類無柄孢子表面留存產孢囊泡柄延伸形成的短梗 (pcl) 脫落痕；B: 最外層孢壁表面具粗糙乳突狀顆粒；C: 類無柄孢子破裂後形成3壁群；D: 類繡球孢子透明，球型至近球型。

Fig. 2. Newly recorded fungus *Ambispora granatensis*. A: acaulosporoid spores with pedicel (pcl) that branch from the sporiferous saccule neck; B: papillae-like rough outer spore surface; C: acaulosporoid spores with three wall groups; D: glomoid spores hyaline, globose to subglobose.

記錄6屬6種叢枝菌根菌，後續之生態效應仍有待觀察。蘇澳圳頭坑溪廢棄礦區復舊造林地以水柳(*Salix warburgii*)、大葉溲疏(*Deutzia pulchra*)及臺灣赤楊生長狀況最

好，根段樣本進行染根後，發現其根系均與叢枝菌根菌形成共生，共記錄6屬9種叢枝菌根菌。花蓮大濁水廢棄礦區復舊造林地以臺灣赤楊生長狀況最好，根系共生菌根

菌物種組成歧異度指數最高，可能與該樣區毗鄰原始林有關。調查發現 *Acaulospora spinosa*、*Acaulospora kentinensis*、*Diversispora spurca*、*Claroideoglossum etunicatum*、*Septoglossum constrictum* 及 *Glossum deserticola* 等6種叢枝菌根菌屬於石灰岩適生菌種且於臺灣東、西部均有記錄。本研究建立臺灣石灰岩礦區菌根菌多樣性基本資料，可提供環境保護政策制定及廢棄礦區植生復舊造林育苗作業參考。

臺灣赤楊接種菌根菌試驗，結果顯示叢枝菌根菌能有效幫助植物生長於這類物理化學性質不良的土壤，尤其是接種分離自這類不良土壤中的菌根菌，效果更明顯。Shetty等(1995)研究發現分離自受到鋅污染土壤的叢枝菌根菌，接種於宿主植物後在鋅含量極高的土壤中，對於生長的促進效果明顯優於接種來自其它地區的叢枝菌根菌，而在鋅含量較低的土壤中，分離自其它地區的菌根菌，對於宿主植物的生長促進效果，則優於分離自受到鋅污染土壤的菌種。然而也有學者提出不同的看法，Koomen等(1987)就認為來自原生育地的菌根菌也並非就一定在原生育地土壤中對宿主有最佳的共生效益。Díaz和Honrubia(1995)於研究中發現於重金屬污染地所分離的菌根菌雖然於原生育地土壤中對宿主的感染率非常高，但是對宿主並無顯著的共生效益。

Weissenhorn等(1994)研究指出原生育地的菌根菌由於其對生育地條件之敏感度不同，因此有的菌種並無法適應一些土壤因子的逆境。原生育地菌種的分離篩選及個別菌種對逆境的適應及耐受性機制，在運用菌根菌作為復育植生的研究上，是

必需認真考慮的問題，因為實際運用時不僅要考慮菌根菌接種後的效益，也必需同時考慮菌種於純化培育時，是否仍保持其對逆境的抗性及適應性。

引用文獻

- 林文嬪。1988。地表採礦區景觀復育之研究。造園季刊 3(2): 62-68。
- Daniels, B. A. and H. D. Skipper. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In: Methods and principles of mycorrhizal research, Schenck, N. C. (Ed.). The American Phytopathological Society, Staint Paul pp. 20-45.
- Díaz, G. and M. Honrubia. 1995. Effect of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Biologia Plantarum* 37: 121-129.
- Gerdemann, J. W. and J. M. Trappe. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir* 5: 76.
- Koomen, I., C. Grace and D. S. Hayman. 1987. Effectiveness of single and multiple mycorrhizal inocula on growth of clover and strawberry plants at two soil pHs. *Soil Biology and Biochemistry* 19: 539-544.
- Koske, R. E. and B. Tessier. 1983. A convenient, permanent slide mounting

- medium. Newsletter Mycological Society of America 34: 59.
- Palenzuela, J., J.-M. Barea, N. Ferrol and F. Oehl. 2011. *Ambispora granatensis*, a new arbuscular mycorrhizal fungus, associated with *Asparagus officinalis* in Andalusia (Spain). *Mycologia* 103: 333-340.
- Püschel, D., J. Rydlová and M. Vosátka. 2007. The development of arbuscular mycorrhiza in two simulated stages of spoil-bank succession. *Applied Soil Ecology* 35: 363-369.
- Rapai, S. B., S. Hunt, L. D. Bainard, M. H. Turgeon and S. G. Newmaster. 2016. Soil inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi promote the growth of boreal plant communities in gold mine overburden. *Ecological Restoration* 34: 216-224.
- Schenck, N. C. and Y. Pérez. 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. INVAM, Gainesville, Florida.
- Shetty, K. G., B. A. Hetrick and A. P. Schwab. 1995. Effects of mycorrhizae and fertilizer amendments on zinc tolerance of plants. *Environmental Pollution* 88: 307-14.
- Spatafora, J. W., Y. Chang, G. L. Benny, K. Lazarus, M. E. Smith, M. L. Berbee, G. Bonito, N. Corradi, I. Grigoriev, K. O'Donnell, R. W. Roberson, T. N. Taylor, J. Uehling, R. Vilgalys, M. M. White and J. E. Stajich. 2016. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia* 108: 1028-1046.
- Stürmer, S. L. 2012. A history of the taxonomy and systematics of arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the phylum Glomeromycota. *Mycorrhiza* 22: 247-258.
- Wang, B. and Y. L. Qiu. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16: 299-363.
- Weissenhorn, I., A. Glashoff, C. Leyval and J. Berthelin. 1994. Differential tolerance to Cd and Zn of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal spores isolated from heavy metal-polluted and unpolluted soils. *Plant Soil* 167: 189-196.