

以禾草類植物進行臺灣重金屬污染土壤之植生復育：從盆栽試驗到田

間試驗之發展

賴鴻裕¹、陳尊賢^{2*}

¹明道大學精緻農業學系

²國立臺灣大學農業化學系

*通訊作者—soilchen@ntu.edu.tw

摘要

台灣有許多農田因為引用受污染灌溉水導致受到重金屬的污染，除了排客土法、翻轉稀釋法和酸洗法之外，植生復育也是一種能應用於受重金屬污染區的技術。台灣過去曾進行過許多植生復育的相關研究，除了利用盆栽試驗篩選植生復育植物外，更曾有多次在台灣北部及中部污染區進行現地試驗。除此之外，過去十年間也曾研究化學藥劑對於促進植生復育效率及對土壤品質的影響，近幾年則利用次細胞分布與化學型態分析技術，評估植物對於重金屬的累積及解毒機制。本論文回顧過去三十年台灣在植生復育的發展過程，並介紹禾草類植物在盆栽及田間試驗之成果。

關鍵字：化學型態(chemical form)、重金屬(heavy metal)、植生復育(phytoremediation)、次細胞分布(subcellular distribution)

農地土壤重金屬污染

台灣的農田受到重金屬的污染主要與引用受污染的水源灌溉有關，依據行政院環境保護署的資料(統計至 2016 年 5 月 31 日)，全台目前列管的農地場址約 373 公頃，主要的重金屬種類及所占百分比分別為銅(Cu)約 43%、鎳(Ni)約 21%、鋅(Zn)約 18%及鉻(Cr)約 13%，這些農地需要經過適當的整治將重金屬濃度降至管制標準以下。翻轉稀釋法是最常用的整治技術，因為它的操作成本低廉且技術成熟，雖然經過翻轉稀釋後的土壤可以降低重金屬濃度，且由於土壤肥力會降低，需要額外添加肥料以補充有機質含量及土壤養分(Lai et al., 2007)，且若污染源頭仍未阻斷，整治後的土壤仍有再度受污染之虞。

篩選超級累積植物

台灣約在三十年前進行植生復育的研究，也進行許多盆栽試驗篩選本土適合種植於污染區的植物，除此之外，也已經進行至少四次的現地試驗來確認盆栽試驗的結果(Chen and Lee, 1997; Lai and Chen, 2009; Lai et al., 2010)。試驗的植物種類超過四十種以上，其中有些植物被認為具有高的重金屬移除效果，包含五彩石竹(rainbow pink, *Dianthus chinensis*)、印度芥菜(Indian mustards, *Brassica juncea*)、孔雀草(French marigold, *Tagetes patula*)及非洲鳳仙(impatiens, *Impatiens walleriana*)等(圖 1)，上述植

物對於重金屬的累積特性則從 2004 年開始持續進行研究。雖然近幾年來許多研究認為禾草類植物移除土壤重金屬的效率低於木本植物，但禾草類植物卻能可以有效覆蓋污染土壤，降低因呼吸吸入或皮膚接觸污染土壤所造成的健康風險

然而由於盆栽試驗與田間試驗在濃度分布及土壤性質上的差異，也造成兩者在比較上的困難度，因此將過去三十年的試驗結果利用生物濃縮係數 (Bioconcentration factor, BCF = 植物體濃度與土壤濃度的比值)加以比較(Lai and Chen, 2011)，結果顯示，由於田間條件下植物的根系不會受到盆栽的限制，因此相同植物在田間環境下比盆栽試驗具有更高的 BCF (圖 2)，BCF 也會隨著土壤重金屬濃度的增加而有指數遞減的趨勢(Lai, 2015a)。

添加化學藥劑促進植生復育效率

五彩石竹對於鎘(Cd)的超級累積能力最早在台灣北部污染區被發現(Chen and Lee, 1997)，種植在污染土壤中約五週之後，地上部累積的鎘濃度由 1.56 上升至 115 mg/kg。Lai and Chen (2004; 2005; 2006)更進行盆栽試驗，將市售的五彩石竹幼苗種植在人工配製全量濃度分別為 19.0、503 及 931 mg/kg 的鎘、鋅及鉛污染土壤中，並施用 5 及 10 mmol/kg 的 EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2$)來增加重金屬的有效性 (availability)，試驗結果發現，EDTA 顯著增加土壤溶液中的重金屬濃度，尤其是鉛 (Pb)，地上部累積的鎘及鉛濃度也顯著增加，顯示 EDTA 可以顯著提升上述兩種重金屬的植生復育效率。

為了瞭解 EDTA 濃度及重金屬種類對五彩石竹植生復育效率的影響，Lai and Chen (2005)配製單一及複合重金屬(鎘、鋅及鉛)污染土壤進行盆栽試驗，結果顯示施用 5 mmol EDTA/kg 顯著增加不同重金屬的有效性及累積濃度，而 2 mmol EDTA/kg 則由於施用量過低，因此並無法顯著提升植生復育的效率。而重金屬間的交互作用(interaction)也會影響五彩石竹對重金屬的累積濃度(Lai and Chen, 2006)，鎘污染土壤中如存在鉛並施用 2 mmol EDTA/kg，對於五彩石竹累積鎘具有促進作用，未施用 EDTA 下，鎘會抑制鋅的累積，而在 5 mmol EDTA/kg 的施用量下，鉛污染土壤中存在鎘或鋅皆會抑制五彩石竹對於鎘的累積。

雖然 EDTA 可以提升植生復育的效率，然而由於 EDTA 不容易被微生物分解，因此可在環境中停留一段時間(Tandy et al., 2006)，雖可利用添加 EDTA 增加重金屬的有效性進而提升植生復育的效果，但如果和重金屬所形成的錯合物 (complex)沒有被植物移除，則因為重金屬移動性增加可能會讓污染的範圍擴大。許多研究也指出，施用如 EDTA 這種螯合劑會影響微生物(Römken et al., 2002; Ultra et al., 2005)和酵素(Epelde et al., 2008)的活性，因此 Lai (2015b)將不同化學藥劑(DTPA $C_{14}H_{23}N_3O_{10}$; EDDS $C_{10}H_{13}N_2O_8Na_3$; EDTA $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2$)施用在五種不同土系的土壤中，評估化學藥劑對於土壤品質的影響，結果顯示施用 5 mmol/kg 的化學藥劑會降低土壤品質指標(soil quality index) (表 1)。價格低廉及對環境友善是植生復育最大的優點，但施用化學藥劑卻會大幅增加復育成本(表 2)、讓污染範圍擴大且會降低土壤品質，因此從成本及環境的觀點而言，利用添

加化學藥劑提升植生復育的效率並不是個好的選擇。

累積及解毒機制的研究

非洲鳳仙是台灣常見的草本植物之一，過去的研究顯示非洲鳳仙可以累積高濃度的重金屬，種植在全量濃度為 10 及 20 mg/kg 的鎘污染土壤中，其累積濃度超過 100 mg/kg，且其 BCF 及傳輸係數(Transfer factor, TF = 地上部濃度與根部濃度的比值)皆超過一(表 3)，顯示非洲鳳仙是一種鎘的超級累積植物(Lin et al., 2010)。當種植在更高的土壤鎘濃度中(20、40 及 80 mg/kg)，雖然生物量(biomass)會降低，但其最高的鎘累積濃度超過 1,100 mg/kg (表 3) (Wei et al., 2012)。

為了瞭解非洲鳳仙為何可以累積高濃度的鎘，近幾年利用分析鎘在非洲鳳仙的次細胞分布(subcellular distribution)及化學型態(chemical form)，以瞭解其對鎘的解毒及累積機制。次細胞分布分析結果顯示(圖 3)，在根部中鎘主要是以移動性較高的可溶性型態(soluble fraction)存在，讓根部累積的鎘可以隨著蒸散作用(transpiration)往地上部移動，到達葉部之後則貯存在細胞壁型態(cell wall fraction)以降低鎘的毒害，葉面積(leaf area)和蒸散作用速率間具有正相關性(Lai, 2015c)。

Lai and Cai (2016)所進行的水耕試驗結果顯示，鎘在非洲鳳仙不同部位的化學型態有很大的差異，根部累積的鎘主要是移動性較高的型態，可以利用酒精或是去離子水萃取出來，但在地上部中的鎘則主要是與細胞壁、果膠或蛋白質結合的型態。盆栽試驗也顯示類似的結果，種植在鎘全量濃度為 10~120 mg/kg 的污染土壤中，非洲鳳仙根部累積的鎘主要貯存於移動性較高的可溶性型態，但當鎘傳輸到地上部之後則主要貯存於細胞壁之中以降低鎘的毒害，而不同部位累積的鎘則主要為與果膠或蛋白質結合的化學型態(Lai, 2015a)。

參考文獻

- Chen, Z.S., and D.Y. Lee. 1997. Evaluation of remediation techniques on two cadmium polluted soils in Taiwan. In: Remediation of Soils Contaminated with Metals. Science Reviews, Northwood, USA. p. 209-223.
- Epelde, L., J. Hernández-Allica, J.M. Becerril, F. Blanco, and C. Garbisu. 2008. Effects of chelates on plants and soil microbial community: comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction. Sci. Total Environ. 401 (1):21-28.
- Lai, H.Y. 2015a. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Impatiens walleriana* in relation to its phytoextraction potential. Chemosphere 138:370-376.
- Lai, H.Y. 2015b. Negative effects of chelants on soil qualities of five soil series. Int. J. Phytoremediat. 17 (3):228-234.
- Lai, H.Y. 2015c. Effects of leaf area and transpiration rate on accumulation and compartmentalization of cadmium in *impatiens walleriana*. Water Air Soil Pollut. 226:2246.

- Lai, H.Y., and M.C. Cai. 2016. Effects of extended growth periods on subcellular distribution, chemical forms, and the translocation of cadmium in *Impatiens walleriana*. *Int. J. Phytoremediat.* 18 (3):228-234.
- Lai, H.Y., and Z.S. Chen. 2004. Effects of EDTA on solubility of cadmium, zinc, and lead and their uptake by rainbow pink and vetiver grass. *Chemosphere* 55 (3):421-430.
- Lai, H.Y., and Z.S. Chen. 2005. The EDTA effect on phytoextraction of single and combined metals-contaminated soils using rainbow pink (*Dianthus chinensis*). *Chemosphere* 60 (8):1062-1071.
- Lai, H.Y., and Z.S. Chen. 2006. The influence of EDTA application on the interactions of cadmium, zinc, and lead and their uptake of rainbow pink (*Dianthus chinensis*). *J. Hazard. Mater.* 137 (3):1710-1718.
- Lai, H.Y., and Z.S. Chen. 2009. In-situ selection of suitable plants for the phytoremediation of multi-metals-contaminated sites in central Taiwan. *Int. J. Phytoremediat.* 11 (3):235-250.
- Lai, H.Y., and Z.S. Chen. 2011. Prior to a successful phytoextraction: pot experiments and field scale studies on the total removal capacity by garden flowers grown in cadmium-contaminated soils in Taiwan. In: *Handbook of Phytoremediation*. Nova Science Publishers, Inc. NY, USA. p. 737-750.
- Lai, H.Y., K.W. Juang, and Z.S. Chen. 2010. Large-area experiment on uptake of metals by twelve plants growing in soils contaminated with multiple metals. 2010. *Int. J. Phytoremediat.* 12 (8):785-797.
- Lai, H.Y., S.W. Su, C.C. Lin, and Z.S. Chen. 2007. A study on the recovery of soil fertility of two metal-contaminated soils after treating with soil acid washing. *J. Sci. Technol. (National Yunlin University of Science and Technology)*, 16:39-46.
- Lin, C.C., H.Y. Lai, and Z.S. Chen. 2010. Bioavailability assessment and accumulation by five garden flower species grown in artificially cadmium-contaminated soils. *Int. J. Phytoremediat.* 12 (5):454-467.
- Römken, P., L. Bouwman, J. Japenga, and C. Draaisma. 2002. Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils. *Environ. Pollut.* 116 (1):109-121.
- Tandy, S., A. Ammann, R. Schulin, and B. Nowack. 2006. Biodegradation and speciation of residual SS-ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) in soil solution left after soil washing. *Environ. Pollut.* 142 (2):191-199.
- Wei, J.L., H.Y. Lai, and Z.S. Chen. 2012. Chelator effects on bioconcentration and translocation of cadmium by hyperaccumulators, *Tagetes patula* and *Impatiens walleriana*. *Ecotox. Environ. Safe.* 84:173-178.

表 1、添加不同化學藥劑對不同土系土壤品質指標的影響 (Lai, 2015b)

Soil series	Dose mmol kg ⁻¹	Soil Quality Index (SQI)			
		DTPA	EDDS	EDTA	CA
Eh	ck	0.40	0.40	0.40	0.40
	2	↓	↓	↓	—
	5	↓	↓	↓↓	—
Pc	ck	0.50	0.50	0.50	0.50
	2	↓↓	↓	—	↓
	5	↓↓↓	↓↓	—	—
Tk	ck	0.54	0.54	0.54	0.54
	2	↓↓	—	—	↑
	5	↓↓↓	↓	—	—
Tp	ck	0.37	0.37	0.37	0.37
	2	↓	—	↓	—
	5	↓↓	↓	↓	↓
Yu	ck	0.58	0.58	0.58	0.58
	2	↓	↓	—	↓
	5	↓↓	↓	—	—

<10% : 「—」, 10-20% : 「↓」, 20-30% : 「↓↓」, >30% : 「↓↓↓」

表 2、添加 EDTA 下植生復育的成本評估

Costs	EDTA treatments		
	Control	5 mmol/kg	10 mmol/kg
Total required amounts of plant (plants×10 ³ /ha/yr)	420	1,680	1,680
Cost of plants (US\$×10 ³ /ha/yr)	210	840	840
Cost of EDTA (US\$×10 ³ /ha/yr)	0	372	744
Total cost (US\$×10 ³ /ha/yr)	210	1,212	1,584
Remediation cost (US\$/ton soil)	18	204	390

表 3、不同處理下非洲鳳仙的累積鎘濃度、BCF 及 TF

Treatments	Concentration (mg kg ⁻¹)		BCF	TF
	Root	Shoot		
	<u>Lin et al. (2010)</u>			
Cd-10	29.5±9.6	48.9±11.7	5.0	1.7
Cd-20	99.0±8.4	100±11	5.7	1.0
	<u>Wei et al. (2012)</u>			
Cd-20	128±21	282±34	14.0	2.2
Cd-40	196±67	342±103	9.1	1.7
Cd-80	462±169	1168±140	14.7	2.5

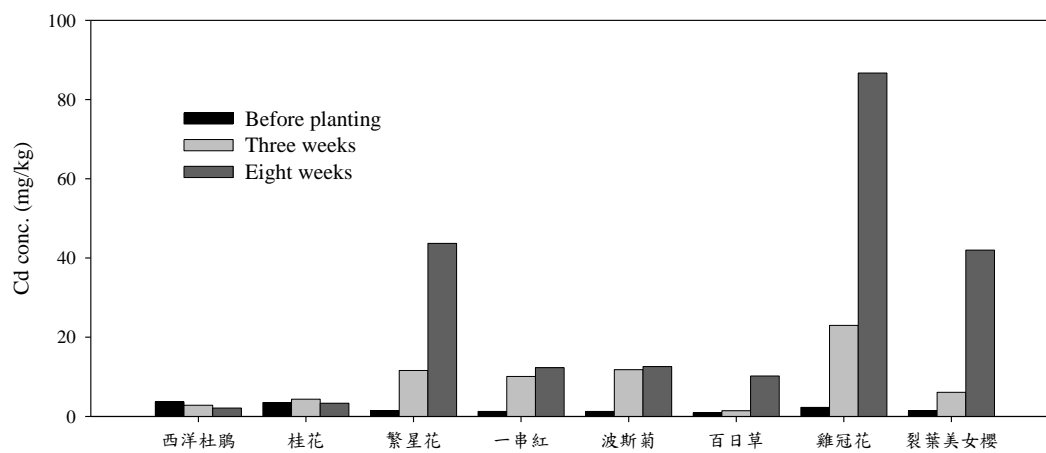


圖 1、種植在台灣北部污染區不同植物對於鎘的累積濃度(本圖依據 [Chen and Lee \(1997\)](#)之數據所繪製)

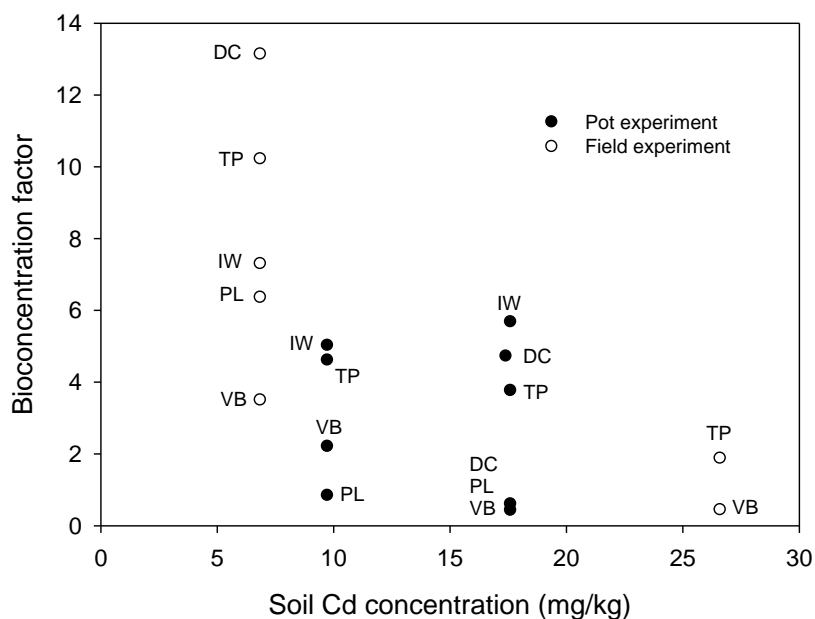


圖 2、盆栽試驗及田間試驗下不同植物的 BCF (Modified from Lai and Chen, 2011)
 (TP—French marigold; VB—Garden verbena; IW—Impatiens; PL—Star cluster;
 SS—Scarlet sage; BJ-A—India mustard Afghanistan; BJ-I—India mustard India;
 BJ-P—India mustard Pakistan, and DC—Rainbow pink)

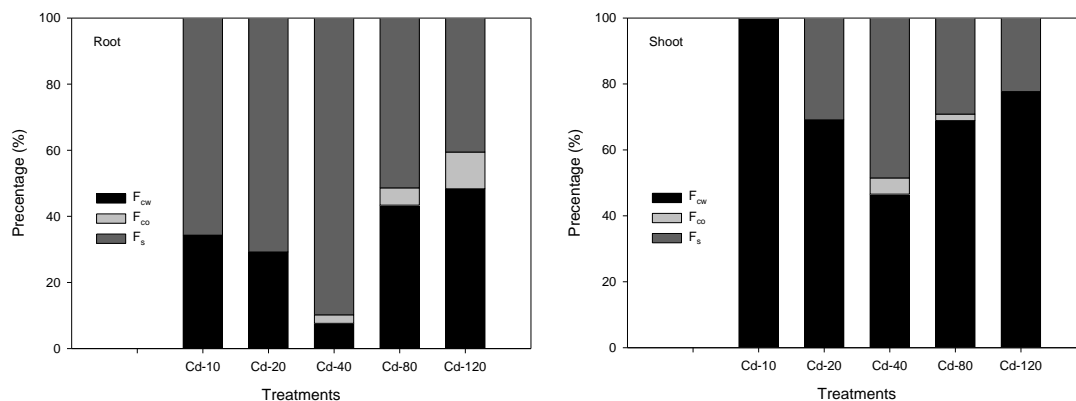


圖 3、不同土壤鎘濃度下鎘在非洲鳳仙不同部位的次細胞分布(Lai, 2015a)

現地施用生物炭後對土壤微生物族群結構與優勢菌株之影響

廖健森^{1,*}、簡士濠²、陳俊元²、羅宜廷¹

¹義守大學土木與生態工程學系/生物技術暨化學工程研究所，高雄，臺灣

²國立屏東科技大學水土保持學系，屏東，臺灣

*E-mail: csliao@isu.edu.tw

摘要

近年來，生物炭(Biochar)被視為可有效改善土壤品質、提升土壤肥力並促進作物產量的有機資材。然而，當其施用於土壤後，對土壤中微生物族群結構、多樣性以及優勢菌株的影響，目前仍可著墨。本研究以臺灣南部的高風化紅壤為試驗土壤，選用木質生物炭(Wood biochar, B)、傳統保水劑--聚丙烯醯胺(Polyacrylamide, PAM)以及植物渣粕堆肥(Compost, COM)作為三種試驗用的土壤改良劑，並於現地孵育 12 個月後，分析添加生物炭等改良劑後，對土壤物化性質與微生物族群結構等之影響。結果顯示，現地孵育 1 年後，共同施用堆肥及生物炭(CB2 及 CB4)之處理可有效提升土壤有效氮至 200 mg kg^{-1} 以上，達作物適合生長之範圍內；同時，土壤物理性質亦皆明顯改善，包含總體密度降低 4-16%、孔隙度增加 8-21%、團粒粒徑增加 30-46%，以及田間容水量顯著提升 50% 以上。微生物影響層面上，土壤在經由施用 1% 堆肥與 2% 生物炭(CB2)處理後，其微生物族群結構的穩定度最大，所保有的微生物族群豐富度(Specific richness, R)最高，且經特殊條帶分析後，得知此處理能夠有效的保有並提升兩株土壤中重要的菌株“*Enterobacter Sacchari*(固氮菌)”與“*Pantoea sp.*(益生菌)”，因此共同施用堆肥與生物炭之處理對於土壤微生物的穩定性與多樣性有促進的效果，但如需保有有益菌株的效果則須考量生物炭之施用量，本研究最終建議以 1% 堆肥與 2% 生物炭(CB2)的施用量為較佳。

關鍵詞：紅壤、生物炭、堆肥、微生物族群結構、固氮菌。

前言

臺灣位處亞熱帶及熱帶地區，屬高溫多雨氣候，土壤有機物分解快速；此外，臺灣地狹人稠，山坡地佔總面積 70% 以上，可耕地少。為使農作物獲高產量，農地集約超限利用，早年並會過量施用化學肥料，因此，長期在此耕作方式下，已使多處耕地土壤品質退化，土壤肥力維持不易。

紅壤為臺灣地區重要耕作土壤之一，佔臺灣面積約 10%，該土壤主要於高溫多雨且乾濕季節分明之氣候條件下化育生成，常被歸類為不利作物生長的低生產力土壤之一。由於第四紀洪積母質紅壤的風化淋洗作用強烈，因此 pH 值多呈現強酸的特性，pH 約在 3.5 至 4.5 之間。此外，紅壤表層土壤有機物質分解迅速，加上流失與沖蝕現象普遍，有機質含量多未達 2%，且鹽基飽和度亦偏低(<10%)。有鑒於上述之紅壤特性，為使紅壤永續利用、增進作物產量及維持紅壤品質，利用有機資材改良紅壤劣化性質為，已逐漸成為目前慣行之農業管理方式。

以往，在農業上所利用之有機資材，主要多為生物固形物(Biosolids)、禽畜

堆肥(Composts)或綠肥(Green manure)等,但此些資材許多都需長期固定添加,才能用以維持土壤有機質,且部分還具有重金屬污染的風險。因此,近年來開始研究將農業廢棄物轉製為生物炭(Biochar),並將之使用為土壤改良劑的新興處理方法。生物炭為一富含碳之固形物質,由生物質(Biomass)在氧氣受限的環境下熱裂解而產生(Lehmann et al., 2003)。因熱裂解的高溫炭化之故,生物炭本身所含之芳香環化合物,即會使生物炭變得較難以礦化分解,因而獲得可長期維持土壤中碳含量的特性。除改善了以往有機資材易礦化分解的缺點外,生物炭同樣可有效改善土壤品質,例如促進土壤構造、團粒穩定性、導水度;增加土壤中微生物活性及減少養份淋洗損失,以及促進植物生長(Joseph et al., 2010)等功能。因此,許多學者開始利用生物炭作為土壤的改良劑,並施用於退化土壤中以改善土壤物化性質與增加作物產量(Joseph et al., 2010)。

生物炭做為土壤改良的添加劑時,對土壤中微生物的影響,則是近年來土壤科學家深感興趣的一個議題。一般而言,每公克的耕地土壤中,約含有數億至數十億個土壤微生物,這些土壤微生物可分為五大類,分別是:細菌、真菌、放線菌、藻類及原生動物等。土壤微生物生活在土壤的團粒與植物的根部附近,依其群落生長,互相間產生平衡作用。在自然的環境下,土壤微生物的族群結構與數量,並不會產生劇烈變化,但如有人為耕作等行為,土壤微生物則可能會產生族群結構改變或數量消長的變化,並對作物或土壤本身,產生有益或有害的影響。因此,本研究即希望以臺灣南部的高風化紅壤為試驗土壤,分析經生物炭、聚丙烯醯胺及堆肥添加處理後,對土壤物化性質及土壤微生物所產生的影響,藉此評估施用包括生物炭在內的添加劑,對提升土壤及作物品質的最佳施用條件。

材料與方法

1. 試驗區資訊

本研究於臺灣南部國立屏東科技大學所屬之緩坡試驗區(120°36'22.38" ; 22°38'41.43")進行。試區坡度為 9%。試區土壤屬高風化紅壤,分類上屬典型濕潤極育土(TypicPaleudults)。試驗過程維持無植被狀態,試驗前及 12 個月後於樣區採集表土(15 cm):樣本風乾後,過 2 mm 篩後進行分析。

2. 試驗設計

試驗選用三種不同土壤改良劑:a.木質生物炭、b.聚丙烯醯胺、c.堆肥。生物炭由工業技術研究院提供;利用高溫灰化爐於 400°C 高溫厭氧環境下製備而成,燒製後之生物炭產物因形狀不一,為降低採樣誤差將生物炭過篩 0.5mm 後收集裝袋。聚丙烯醯胺為富爾吉股份有限公司提供之陰離子型 AN910SH,電荷密度(Charge density)為 10%,分子量為 12 mg mole⁻¹。堆肥為興農股份有限公司販售之新樂園 1 號,此產品據肥料管理法屬合法之混合有機質肥料,肥製(質)字第 0085124 號,品目編號 5-12,主要由植物渣粕及魚廢料混合而成。

本研究共有 8 試驗組:1. CK:控制組(無任何施用之原始土壤),2. COM:施用 1%堆肥,3. B2:施用 2%生物炭,4. B4:施用 4%生物炭,5. CB2:施用 1%堆肥與 2%生物炭,6. CB4:施用 1%堆肥與 4%生物炭,7. PAM10:施用 10 ppm 聚丙烯醯胺,8. PAM50:施用 50 ppm 聚丙烯醯胺。生物炭及堆肥以灑播方式施用;PAM 以 0.4 g 稀釋於 8L 去離子水,可得 PAM 濃度 50 ppm,再利用農用噴霧器均勻噴灑於試驗區。所有試驗設計採完全逢機區集設計(Complete random block design, CRBD)。

3. 土壤性質測定

待孵育 12 個月後進行試驗土壤的採集，其後於實驗室進行土壤基本性質分析，項目包括：土壤酸鹼度(pH)、土壤有機碳(Soil organic carbon, SOC)、有效氮(Available nitrogen)、有效磷(Available phosphorus)、總體密度(Bulk density, BD)、土壤孔隙度(Soil porosity, Po)、平均重量直徑(Mean weight diameter, MWD)、田間含水量(Field water contents, FWC)。

4. 土壤微生物族群結構分析

4.1. 土壤微生物族群結構之 PCR-DGGE 分析

欲瞭解土壤樣品中微生物族群結構的改變情形，可使用聚合酶鏈鎖反應/變性梯度凝膠電泳 (PCR-DGGE)技術來進行分析。首先，先要取得土壤樣品中的微生物 DNA 來進行分析。DNA 萃取與 PCR-DGGE 分析，是參考 Chang 等人(2014)於文章中所敘述的方法步驟。吾人使用 UltraClean 土壤 DNA 萃取套組來萃取土壤樣品中的總微生物 DNA。萃取完成後，套組中之試劑亦已同時去除土壤中的腐植酸，藉以純化土壤微生物之 DNA，接著將 DNA 以 1% 瓊脂製成之膠體進行電泳。結束電泳之後，膠體隨即以溴化乙錠染色，接著將膠體上之 DNA 切下並以 QIA 快速膠體萃取套組進行處理。PCR(聚合酶連鎖反應)以 GeneAmp PCR System 9700 thermal cycler 此儀器進行分析。PCR 之引子 968f: 5'-GC-clamp+ AACGCGAAGAACCTTAC-3' 與 1401r: 5'-CGGTGTGTACAAGACCC-3'被使用來放大真細菌之 16S rDNA 基因片段，放大之範圍從第 968 個核苷酸至第 1401 個核苷酸(Nubel et al., 1996)。PCR 之各階段反應溫度，分別為：以 95°C、5 分鐘的條件，來使 DNA 產生變性反應。接著以 95°C、45 秒，55°C、45 秒的引子接合，72°C、1 分鐘的序列延長，以及 72°C、10 分鐘的最終序列延長，來進行總共 30 次循環的放大反應。最後，PCR 的產物被以膠體進行電泳，並以溴化乙錠染色後進行觀察分析。

DGGE 是以 D-Code 通用變性分析系統(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)來進行分析。PCR 反應之產物，將依照 Cremonesi 等人(1997)所敘述的方法，被一種雙梯度的膠體給分離開來。此膠體是由 8% 的聚丙烯酰胺所製成，其中包括 50%-75% 變性梯度(以 7M 之尿素與 40% 之甲醯胺來製成 100% 之變性梯度)。電泳在溫度 60°C 下，以 70 伏特電壓來進行 780 分鐘，緩衝液為 TAE(40 mM Tris, 20 mM 醋酸, 1 mM EDTA, pH 7.4)。電泳完成後，聚丙烯酰胺被以銀染並以照膠系統進行分析。

4.2. 土壤微生物族群結構之聚類分析(clustering analysis)

DGGE 圖形以 Quantity One 軟體(Bio-Rad, USA)來進行辨識與聚類分析(Clustering analysis)。DGGE 圖形上每個條帶間的相似度，是利用 Dice 常數來進行計算分析的(Dice 1945)。

$$S = \frac{2a_1}{2a_1 + (a_2 + a_3)}$$

a1 是指同時出現在泳道 1(lanes 1)與泳道 2 的一個條帶(band)，a2 是指僅出現在泳道 1 的一個條帶，a3 是指僅出現在泳道 2 的一個條帶。接著，親緣系統演化樹可藉由 UPGMA 演算法給計算出。為了要從群組數目的分析上來得到聚類分析的結果，因此藉由使用 SAS 程式(Statistical Analysis System, SAS Institute,

Inc.)，應用其中位數統計的方法來計算 Dice 母體。在得到中位數的數值之後，統計上的轉折點被採用來測定親緣系統演化樹上的集群數目。轉折點則被定義為當點配合上一個中位數數值在斜率上的顯著改變。

4.3. 土壤微生物族群豐富度、結構生物多樣性與菌株優勢度之分析

分析用土壤樣品中，微生物之族群豐富度(Specific richness, R)、結構生物多樣性(Structural biodiversity, H)與菌株優勢度(Dominance, S)均參考 Ampe and Miambi 之計算方法來進行分析(Ampe and Miambi, 2000)。

5. 統計分析

本研究使用 IBM SPSS 22 軟體進行各試驗分析，並使用 One-Way Analysis of variance (ANOVA)及雙變數相關分析探討各處理間顯著性及實驗結果處理間相互影響關係，處理間平均值的多重比較採用 Duncan 新多變域測驗，顯著差異設在 $p < 0.05$ 。

結果與討論

1. 供試土壤與土壤改良劑性質分析

供試土壤及土壤改良劑性質如表一所示。供試土壤為坵質黏壤土，土壤呈極酸性，土壤肥力偏低。生物炭之 pH 偏中性，總碳含量約 41%，本身肥力亦不高。PAM 溶液屬鹼性，pH 為 8.0，總碳含量約 82%，PAM 本身並不具肥力。本試驗採用之植物粕堆肥，pH 屬微酸，C/N 值為 17.8，肥力高，為高品質堆肥。

表一、供試土壤及土壤改良劑性質分析

Items	Soil	Biochar	PAM	Compost
pH	4.5 ± 0	6.9 ± 0.1	8.0 ± 0.1	6.0 ± 0.1
TC (%)	0.9 ± 0.4	41 ± 0.3	82 ± 3.0	84 ± 2.0
C/N	20.3	110	-	17.8
Sand	14.0	-	-	-
Silt	57.0	-	-	-
Clay	29.0	-	-	-
CEC(cmol (+) kg ⁻¹)	14.0	-	-	-
TN(g kg ⁻¹)	0.90 ± 0.20	3.67 ± 0.49	-	46.6 ± 1.78
IN (mg kg ⁻¹)	16.0	188 ± 37.5	-	453 ± 2.90
Bray No.1 P (mg kg ⁻¹)	3.75±0.11	15.2±0.04	ND	4800±543
Ex. K (g kg ⁻¹)	0.05 ± 0.00	0.71± 0.04	ND	17.6 ± 0.12

TC: Total Carbon, CEC: Cation exchange capacity, Ex.: Exchange Ca, Mg, K., IN: inorganic nitrogen contents, ND: not detected, -:not determined

2. 各處理土壤試驗之基本性質分析

各處理土壤試驗基本性質分析結果如表二所示。單純施用生物炭或同時施用生物炭與堆肥，皆可顯著提高土壤 pH 值。PAM 自身 pH 雖為 8.0，但對改善土壤 pH 效果並不顯著，推測應為施用濃度不高之緣故。

在土壤有機碳的部分，CB4 處理組對提升土壤有機碳的效果最佳，可增加 53% 有機碳含量(4.4 gkg⁻¹)，並顯著高於其它處理組。COM、B4 與控制組 CK 間

有顯著增加(分別為 20%, 19%), 但 B2 及 CB2、PAM50 則無顯著差異。結果顯示添加足量的堆肥或生物炭均可提升土壤有機碳含量。

在土壤有效氮的部分, 結果發現, 施用堆肥(COM、CB2、CB4)可顯著且土壤有效氮含量顯著增加(分別增加 267%、217%與 153%)。施用少量生物炭(B2)、PAM50 的增加量則較低(36%與 28%), B4 則與控制組無顯著差異。雖然統計結果並不顯著, 但生物炭對土壤有效氮含量的作用可能與堆肥不同, 過度添加生物炭將對土壤有效氮的提升造成影響。

土壤有效磷的分析結果顯示, 添加堆肥及混合少量生物炭(COM、CB2)後土壤有效磷含量顯著增加(40%與 29%), 添加堆肥及大量生物炭(CB4)則有少量增加, 但無統計顯著。單獨施用生物炭(B2、B4)顯著降低土壤有效磷含量(各別減少 59%與 67%)。PAM50 則無顯著影響。

在土壤總體密度與孔隙度的部分, 施用足量生物炭(B4、CB4)及 PAM, 總體密度皆顯著降低(分別降低 5%、16%與 6%), 尤以 CB4 處理較其它處理組降低更多。B4、CB2、CB4 與 PAM50 處理組, 土壤孔隙率顯著增加(分別增加 5%、8%、22%及 10%), 其中以 CB4 處理較其它處理組增加的多。

本試驗採用濕篩法測得各粒徑團粒並計算平均重量直徑(Mean weight diameter, MWD)。現地孵育 12 個月後, 施用添加物之各處理團粒粒徑皆有顯著增加, 尤其以 COM、B4、CB4 及 PAM50 對促進團粒粒徑的效果更為顯著(分別增加 46%、41%、47%與 41%), 亦即顯示此類處理對增加團粒穩定度之效果最佳。

本試驗僅取 CK、COM、CB4 及 PAM 處理於既定壓力(33 kPa)下, 測得各處理土壤之含水量, 亦即土壤之田間含水量(Field water contents, FWC)。相較於對照組, 除 PAM 處理對田間含水量提升程度較不明顯外, 施用各資材之田間含水量皆顯著增加。此外, 經 CB4 處理後之土壤, 其田間含水量顯著提升 54%以上。

表二、各處理土壤試驗基本性質分析

Treatments	pH	SOC	Av. N	Av. P	BD	Po	MWD	FWC
		g kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	g cm ⁻³	%	mm	%
CK	4.8 ^{a*}	8.3 ^a	81 ^a	3.71 ^a	1.41 ^a	44.9 ^a	0.96 ^a	13.1 ^a
COM	4.9 ^a	10.0 ^b	297 ^c	5.18 ^b	1.41 ^a	45.9 ^{ab}	1.40 ^{bc}	-
B2	5.5 ^b	9.2 ^{ab}	110 ^b	1.53 ^c	1.40 ^a	45.4 ^{ab}	1.22 ^b	-
B4	6.0 ^c	9.9 ^b	95 ^{ab}	1.24 ^c	1.34 ^b	47.1 ^b	1.35 ^{bc}	15.2 ^b
CB2	5.7 ^{cb}	9.0 ^{ab}	257 ^c	4.77 ^b	1.35 ^{ab}	48.6 ^b	1.25 ^b	-
CB4	5.9 ^c	12.7 ^c	205 ^c	4.12 ^{ab}	1.18 ^c	54.6 ^c	1.41 ^{bc}	20.2 ^c
PAM50	5.1 ^{ab}	8.4 ^a	104 ^b	3.15 ^a	1.32 ^b	49.3 ^b	1.35 ^{bc}	14.0 ^{ab}

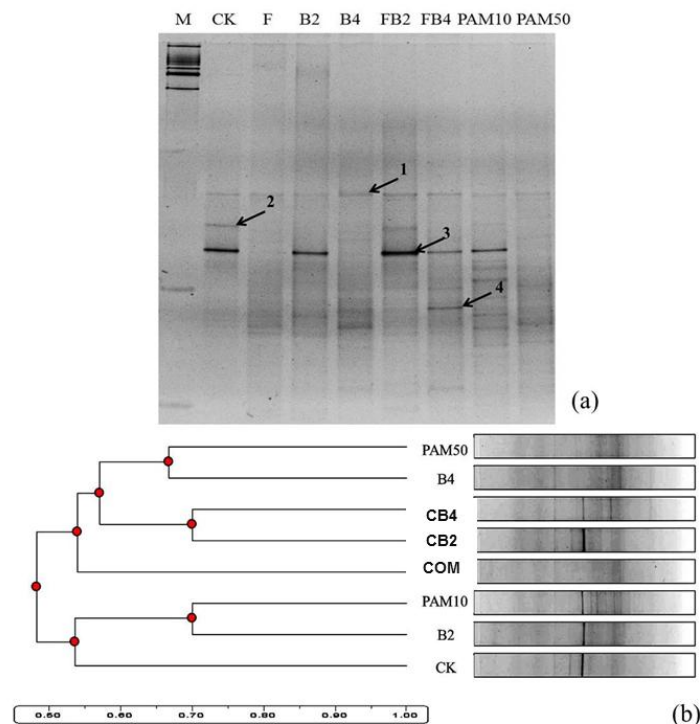
* : Values followed by the same letter with in a column are not significantly different at $p = 0.05$ level based on Duncan's test.

CK: Control, B: Biochar, C: Compost, P:PAM, CB: Compost and Biochar ; SOC: Soil organic carbon; Po: Porosity; MWD: Mean weight diameter ; Ksat: Hydraulic conductivity; FWC: field water content.

3. 土壤微生物分析

3.1. 土壤微生物族群結構與親緣關係聚類分析

經過不同處理的土壤樣品中，土壤微生物族群結構的分析結果如圖一所示。在族群結構方面，結果顯示八種不同處理的土壤，在族群結構分析上，分成兩大族群。在第一族群中，CB2、CB4 這兩組的微生物族群結構最為接近(親緣系統演化較近)，其親緣關係相似度為 0.7，此結果表示在土壤中同時添加堆肥與生物炭，可使得土壤中微生物族群維繫親緣系統較近的關係，亦表示堆肥與生物炭能夠穩定土壤中的微生物族群結構。而在同一族群中，B4 與 PAM50 則有 0.67 的相似度，表示單獨添加 4% 生物炭或 50ppm 聚丙烯醯胺時，土壤微生物族群結構的相似度成為了類似的分群，此結果亦表示添加較高濃度的生物炭或聚丙烯醯胺時，對土壤微生物族群結構會產生類似的影響。而這樣的結果，從另一大族群中，B2 與 PAM10 這兩組的分群與相似度結果亦可看出。最後，則是各自獨立的 COM 與 CK 兩組，此結果表示添加微量 1% 的生物炭，或是完全無任何添加處理的控制組土壤，其土壤微生物族群結構，均與經各種處理過後的土壤有顯著的差異。



圖一、不同處理土樣中，土壤微生物族群結構之分析結果。(a). PCR-DGGE 指紋譜，(b). 聚類分析之親緣系統演化樹。Lane M 為 DNA Marker、Lane CK 為控制組(無任何添加)、Lane COM 為添加 1% 堆肥、Lane B2 為添加 2% 生物炭、Lane B4 為添加 4% 生物炭、Lane CB2 為添加 1% 堆肥與 2% 生物炭、Lane CB4 為添加 1% 堆肥與 4% 生物炭、Lane PAM10 為添加 10ppm 聚丙烯醯胺、Lane PAM50 為添加 50ppm 聚丙烯醯胺。

3.2. 土壤微生物族群特殊菌株分析

在圖一中，依照 DGGE 指紋譜之結果，選出了四個菌株條帶(band)，進行其 16S rDNA 之解序，其結果如表三所示。表三中之 1 號條帶，是一株出現在全部分析土樣中的菌株，經分析結果顯示此菌株為“*Escherichia coli*”，此菌為環境中與生物腸道中常出現之菌株，其亦具有溶磷之能力，而此菌株出現在所有分析土樣中，判斷可能為土壤先前所施用堆肥有關。

2 號條帶，是一株僅明顯出現於 CK(控制組)及 CB2 中的菌，經分析其為”*EnterobacterSacchari*”，此菌經前人研究，是一株常出現在玉米田中的固氮菌 (Zhu et al., 2013)，此結果顯示土壤經添加 1%堆肥與 2%生物炭後，能有效保有一株原有土壤中之固氮菌。

3 號條帶，是一株大量出現於 CK、B2、CB2、CB4 跟 PAM10 優勢菌株，經分析其為”*Pantoea sp.*”(中文被稱為潘朵拉菌)，此菌株為一株廣泛分佈於自然界中的革蘭氏陰性厭氧桿菌，可利用硝酸鹽(NO_3^-)及銨(NH_4^+)做為氮源，在厭氧的環境中生長。*Pantoea sp.*目前共有七個種被正式命名，其中一種 *Pantoeaagglomerans* 經研究發現會與水稻共生並促進水稻生長，屬於一種植物的內生型固氮菌(Asis and Adachi, 2004)。*Pantoea sp.*目前亦被大量使用於水產養殖中，可將水體中過量的 NH_4^+ 去除、抑制水黴菌或弧菌等病原菌，因此被製成有效的微生物製劑。由於不同種的 *Pantoea sp.*間，部分具有固氮，而部分具有可將環境中過量的 NH_4^+ 去除、抑制病原菌等特性，因此在陳述此菌株時，統一以益生菌來稱呼之。由本研究的分析結果發現，在土壤中添加 2%生物炭(B2)、1%堆肥與 2%生物炭(CB2)、1%堆肥與 4%生物炭(CB4)以及 10ppm 聚丙烯醯胺(PAM10)均可保有此株益生菌，而其中又以添加 1%堆肥與 2%生物炭(CB2)時的效果最佳。

4 號條帶是一株僅出現在 CB4 處理土壤中的菌株，經分析為”*Paenibacillus sp.*”，此菌株亦為一株固氮菌，此固氮菌並無出現在原始土壤中，僅出現在經 1%堆肥與 4%生物炭(CB4)處理的土壤中，而此處理雖能造成此菌株之產生，但卻無法保有固氮菌”*EnterobacterSacchari*”且會降低 ”*Pantoea sp.*”這株益生菌，因此吾人認為此處理並不是提升土壤肥力之最佳處理條件組。

表三、DGGE 指紋譜中，土壤微生物族群特殊菌株之 16S rDNA 分析

DGGE band	Closest relative	Identity (%)	Accession No.
1	<i>Escherichia coli</i>	100	CP007799
2	<i>EnterobacterSacchari</i>	99	CP007215
3	<i>Pantoeasp.</i>	100	KC255198
4	<i>Paenibacillus</i> sp.	97	CP009282

3.3.土壤微生物族群豐富度、結構生物多樣性與菌株優勢度之分析

經上述 DGGE 指紋譜分析計算後，所得出之土壤微生物族群豐富度(Specific richness, R)、結構生物多樣性(Structural biodiversity,H)與菌株優勢度(Dominance,S)之結果如表四所述。結果顯示，在微生物族群豐富度(R)方面，B2、CB2、CB4 與 PAM₁₀ 的物種豐富度最高(菌株數量最多)，而 CK 跟 COM 的豐富度最低(菌株數最少)。此結果顯示在土壤中添加 2%生物炭(B2)、1%堆肥與 2%生物炭(CB2)、1%堆肥與 4%生物炭(CB4)以及 10ppm 聚丙烯醯胺(PAM₁₀)時，土壤中的微生物族群豐富度最高，也代表在此四種處理下，土壤中微生物種類的數量相對會較多。在菌群結構生物多樣性(H)方面，在 CB2 與 CB4 這兩組產生了一個特殊的結果，雖然此兩組在族群豐富度(R)的分析上相同，但在多樣性的部分，由於 CB2 具有一株顯著的優勢菌株--*Pantoea sp.*，此菌株經分析後其條帶顏色濃度約佔整體的 80%，也就表示此優勢菌株之數量約佔所有菌株之 80%左右，因此雖然 CB2 與 CB4 的豐富度相同，但在結構生物多樣性(H)的數值上，CB2 為 1.27 而 CB4 為 2.79，代表 CB2 的優勢菌株降低了整體的結構生物多樣性。最後，

在菌株優勢度(Dominance,S)的結果上,亦可以發現土壤在經過 1%堆肥與 2%生物炭(CB2)處理之後,會產生一個在所有分析土樣中,最高數值(0.64)的優勢菌株,此菌株即為固氮菌--*Pantoea* sp.。

由以上所有之土壤微生物分析可以做出一個結論,即是土壤在經由添加 1%堆肥與 2%生物炭(CB2)處理後,其微生物族群結構的穩定度最大,所保有的微生物族群豐富度(Specific richness, R)最高,且經特殊條帶分析後,得知此處理能夠有效的保有並提升兩株土壤中重要的菌株,分別是固氮菌"*Enterobacter Sacchari*"與益生菌"*Pantoea* sp.",因此吾人認為此處理對於土壤微生物的穩定性、多樣性、以及保有有益菌株的效果為最佳。

表四、由 DGGE 指紋譜分析計算後,所得出之土壤微生物族群豐富度(Specific richness, R)、結構生物多樣性(Structural biodiversity, H)與菌株優勢度(Dominance, S)之分析結果

Treatments	R	H	S
CK (lane 1)	5	1.14	0.63
COM (lane 2)	6	2.42	0.21
B2 (lane 3)	9	1.84	0.46
B4 (lane 4)	7	2.52	0.20
CB2 (lane 5)	10	1.27	0.64
CB4 (lane 6)	10	2.79	0.18
PAM10 (lane 7)	11	2.84	0.22
PAM50(lane 8)	8	2.85	0.15

參考文獻

1. Ampe, F., and E. Miambi. 2000. Cluster analysis, richness and biodiversity indexes derived from denaturing gradient gel electrophoresis fingerprints of bacterial communities demonstrate that traditional maize fermentations are driven by the transformation process. *Int J Food Microbiol.* 60: 91-91.
2. Asis, C. A., and K. Adachi. 2004. Isolation of endophytic diazotroph *Pantoea agglomerans* and nondiazotroph *Enterobacter asburiae* from sweet potato stem in Japan. *Lett. Appl. Microbiol.* 38: 19-23.
3. Chang, B.V., J.H. Liu, and C. S. Liao. 2014. Aerobic degradation of bisphenol-A and its derivatives in river sediment. *Environ. Technol.* 35: 416-424.
4. Cremonesi, L., S. Firpo, M. Ferrari, P. G. Righetti, and C. Gelfi. 1997. Double-gradient DGGE for optimized detection of DNA point mutations. *Biotechniques* 22: 326-330.
5. Dice, L. R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 16: 297-302.
6. Joseph, S.D., M. Camps-Arbestain, Y. Lin, et al., 2010. An investigation into the reactions of biochar in soil. *Aust. J. Soil Res.* 48: 501-515.
7. Lehmann, J., J.P. de Silva Jr, C. Steiner, T. Nehls, W. Zech, and B. Glaser. 2003. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and Ferralsol of the central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. *Plant Soil* 249: 343-357.

8. Nubel, U., B. Engelen, A. Felske, J. Snaidr, A. Wieshuber, R. I. Amann, W. Ludwig, and H. Backhaus. 1996. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacilluspolymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis.*J.Bacter.*178:5636-5643.
9. Zhu, B., Q. Zhou, L. Lin, C. Hu, P. Shen, L. Yang,Q. An, G. Xie,and Y. Li. 2013. *Enterobactersaccharisp. nov.*, a nitrogen-fixingbacterium associated with sugar cane (*Saccharumofficinarum* L.). *Int. J. Syst.Evol.Micr.* 63:2577-2582.

高屏澎地區之土壤肥料研究

林景和*、張耀聰、林永鴻、蘇博信、胡智傑

行政院農業委員會高雄區農業改良場

*Chingholin253@mail.kdais.gov.tw

屏東縣長治鄉德和村德和路 2-6 號

摘要

高雄區農業改良場 5 年來在土壤肥料的研究，主要有：1. 土壤環境改善研究、2. 作物合理化施肥及植體營養診斷、3. 菌根菌培育及其應用、4. 農產廢棄物再利用，以及 5. 農產品重金屬含量管理和應用等 5 項，結果如下：

1. 土壤環境改善研究：果園草生栽培可提高土壤孔隙度、減緩土壤酸化速度及增加土壤有機質含量，同時可提高土壤保肥力，增加蜜棗果實可溶性固形物。網室木瓜園之土壤溫度的變化與土壤肥力間並無顯著相關性，但對木瓜葉部養分具顯著相關性，且對果實品質造成影響。
2. 作物合理化施肥及植體營養診斷：利用土壤肥力分析及植物營養診斷進行合理化施肥，並利用根瘤菌進行毛豆接種可促進合格夾收穫量，並且藉由長期植體營養分析，建立木瓜及芒果葉片營養診斷標準。在有機農法試驗田生產及土壤監測方面，水旱田及早田輪作系統，春作產量均以有機區為最佳。
3. 菌根菌培育及應用：探討適合叢枝菌根菌之培養介質特性，及與介質養份之相關性，並以肥料變級改善其產孢量。叢枝菌根菌接種於木瓜幼苗可抗飽水逆境，接菌木瓜苗於連作田應用，可提早木瓜開花與採收及果實品質，並降低根部感病死亡率。另開發有益微生物育苗介質，可改善作物育苗表現及有較佳之移植存活率。並藉由調查選出高屏地區愛文芒果田間土壤的優勢菌根菌菌種，並加以應用於草生栽培改善芒果田間土壤特性及植體養分，並可降低其炭疽病的感染。
4. 瞭解市售兩類碳化稻殼之基本性質，並已研究出小果番茄、甜瓜、棗等作物之建議施用量，另將稻殼做表面修飾，添加於花卉栽培介質，調整栽培過程之水分及肥培管理，可維持植株之生長及出盆品質。
5. 自民國 100 年至民國 103 年已完成高屏地區監測採樣，監測蔬菜種類包括葉菜類、絲瓜、茄子、苦瓜、洋蔥、紅蘿蔔、南瓜及胡瓜等，截至目前已完成分析的土壤及植體皆低於管制級食用標準。

關鍵詞：草生栽培、合理化施肥、叢枝菌根菌、農產廢棄物、重金屬含量

前言

高雄區農業改良場負責高雄市(含原高雄縣)、屏東縣及澎湖縣農作物之品種、栽培技術改良及農業推廣等工作。根據 104 年度農業統計年報資料，本場轄區耕地面積約 117,457 ha，約佔轄區土地面積 20.1%，農業戶數約 133,560 戶，佔全臺灣 17.03%，農業人口數 492,231 人，佔轄區內人口 13.2%。轄區氣候屬熱帶型，夏季炎熱多雨、冬季溫暖乾旱，近 5 年的平均氣溫約 24.8°C，6-9 月暑高溫期，平均溫度 29°C，5-9 月為雨季，10 月至翌年 4 月為旱季，近 5 年內的年平均累積雨量約為 2,084.8 mm。

由於氣候變遷與長期農耕對土地的影響，農作物產生質與量的變化，為使土壤永續利用，進而推動作物合理化施肥技術，以維護地力；就此，本場 5 年來在土壤肥料研究之主要工作，包括 1.土壤環境改善研究、2.作物合理化施肥及植體營養診斷、3.菌根菌培育及其應用、4.農產廢棄物再利用，以及 5.農產品重金屬含量管理和應用等，期能提供農民友善耕作的方法。

材料與方法

一、試驗地點：

試驗地點分布於高雄區農業改良場場內試驗田區，以及轄區內農民願意配合提供之農田，場外試驗農田主要分佈高雄市杉林區、美濃區、六龜區、大樹區、屏東縣里港鄉、高樹鄉、新埤鄉、九如鄉、鹽埔鄉、長治鄉、萬丹鄉、南州鄉、枋寮鄉、枋山鄉、獅子鄉等地。

二、分析項目：

- (一) 土壤分析：按土壤分析手冊(中華土壤肥料學會，1995)項目有：土壤pH(土：水=1：1)、土壤電導度(EC值)(土：水=1：5)、土壤有機質(灰化法)、土壤有效性磷(鈾藍法 Bray No.1)，土壤有效性鉀、鈣、鎂(孟立克氏法 Mehlich No.3)、土壤有效性鈉、鐵、錳、銅、鋅，以0.1 N HCl萃取後，再利用感應耦合電漿儀測定。
- (二) 植體分析：有效性磷(鈾黃法Bray No.1)檢測、有效性鉀、鈣、鎂、鈉、鐵、錳、銅、鋅以雙酸(H₂SO₄、HClO₄)分解後，再利用感應耦合電漿儀測定。果實可溶性固形物(°Brix%)，以數位式曲折度計(Digital Refractometer, PAL-1, ATAGO)測定。
- (三) 叢枝菌根菌分離：以濕篩傾倒法進行菌根孢子的篩選(吳與林，1998)，再將分離之菌種純化培養，並加以應用於不同作物。

結果與討論

一、土壤環境改善研究

果園草生栽培對於土壤理化性質、土壤保水性、土壤保肥力及生物性質的改善具有正面功效；研究顯示：果園利用具有較佳越冬性、耐陰性及耐踐性的草類，經 3 個月栽培，可提高土壤孔隙度、減緩土壤酸化速度及增加土壤有機質含量。

另透過傅立葉紅外線轉換圖譜(FTIR)分析(圖 1)，以果園草生栽培的土壤於 900-1200 cm^{-1} 、1690-1710 cm^{-1} 及 3300-3500 cm^{-1} 有明顯的吸收峰，分別代表脂肪族 OH 基團、氫鍵、一般 OH 基團及 COOH 基團，具有較強的陽離子親和性，此應與草類根部防止土壤養分流失有關。

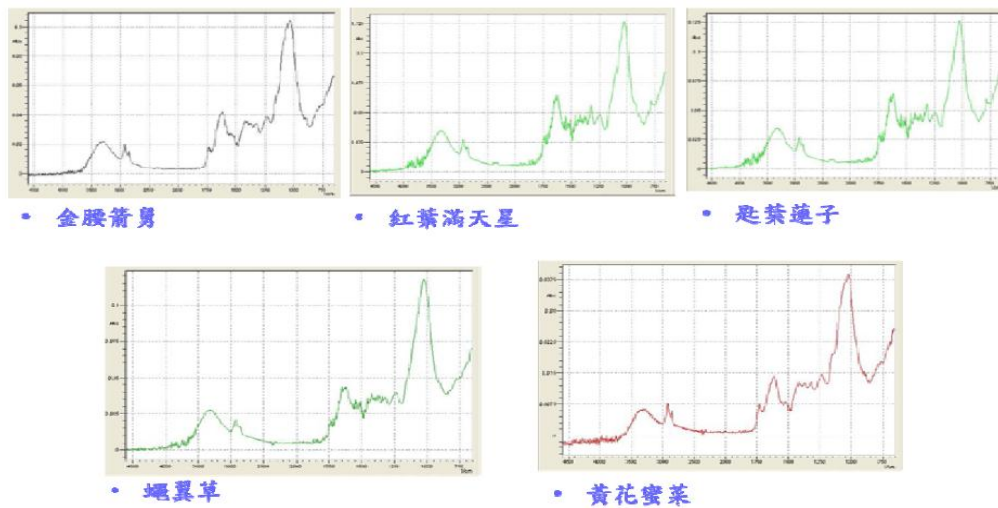


圖1. 果園以5種草生栽培草類根部之傅立葉紅外線轉換圖譜

果園在不同草生栽培下，顯示：黃花蜜菜及紅葉滿天星2草種對土壤酸鹼度的酸化均有延緩功效，而黃花蜜菜對土壤有機質及磷含量的提升效果較佳，紅葉滿天星則對土壤鉀、鈣及鎂的保持效果較佳，同時，兩者均可提高棗平均單果重量及可溶性固形物(°Brix) (圖2)。

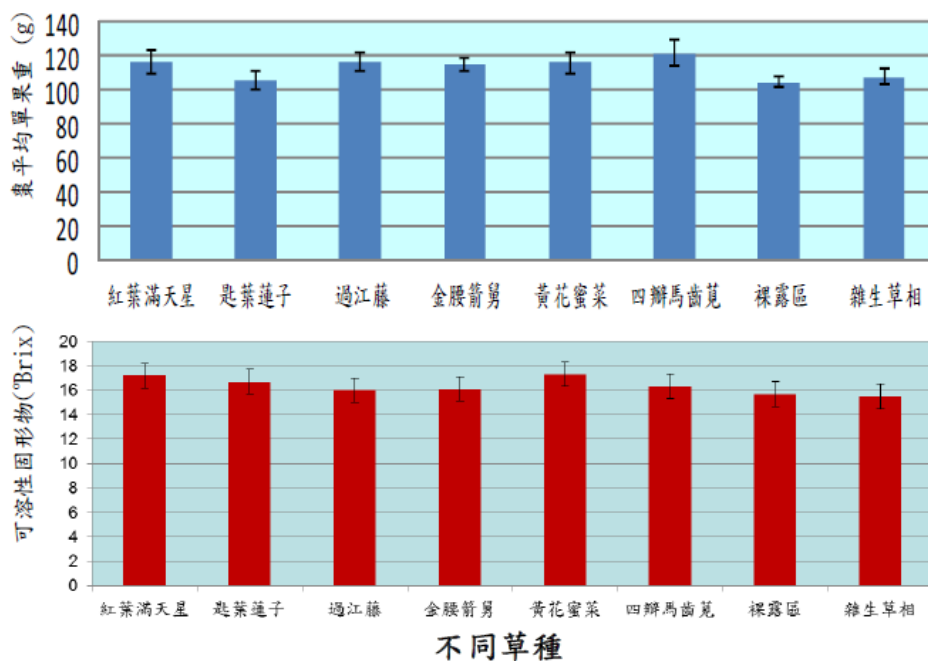


圖2. 不同草生栽培草種對棗果實品質的影響

作物栽植前種植不同綠肥研究顯示：孔雀草、萬壽菊、油菜、田菁及太陽麻五種綠肥，種植 2 個月後，前兩種綠肥之植體內多種營養元素含量降低，而後者則為提升（表 1），故建議孔雀草及萬壽菊於種植後 1-1.5 個月，而油菜、田菁及太陽麻則於種植 2-2.5 個月後耕犁入土較適當。該 5 種綠肥耕犁入土後，第 1 週之土壤酸鹼度明顯降低，而後再顯著提升且高於栽植前的土壤酸鹼度；其中以孔雀草及田菁的效果較快，後續之萬壽菊及油菜可達到與孔雀草及田菁相近的土壤酸鹼度，而太陽麻之效果較不理想（圖 3）；隨著綠肥被犁入時間的增加而土壤有機質含量亦增加，其中以孔雀草之效果最佳，然裸露地則無明顯提高土壤有機質含量（圖 4）。

表 1.5 種綠肥作物種植一個月及兩個月後植體營養要素濃度

綠肥	%					mg/kg				
	氮	磷	鉀	鈣	鎂	鐵	錳	銅	鋅	
一個月										
孔雀草	3.77	0.23	5.32	1.04	0.34	1672	171	16	47	
萬壽菊	2.19	0.41	7.11	1.56	0.49	347	95	14	47	
田菁	1.66	0.37	4.61	1.05	0.19	275	106	16	39	
油菜	2.69	0.41	8.44	1.82	0.28	229	53	9	47	
太陽麻	1.45	0.28	4.46	0.93	0.35	437	100	10	42	
兩個月										
孔雀草	3.25	0.33	4.07	0.94	0.23	95	50	6	27	
萬壽菊	2.06	0.48	4.85	1.18	0.28	105	48	6	33	
田菁	2.77	0.30	5.45	0.76	0.15	90	34	10	27	
油菜	3.72	0.39	6.15	2.26	0.31	268	49	8	47	
太陽麻	2.32	0.28	3.69	0.86	0.31	123	60	7	32	

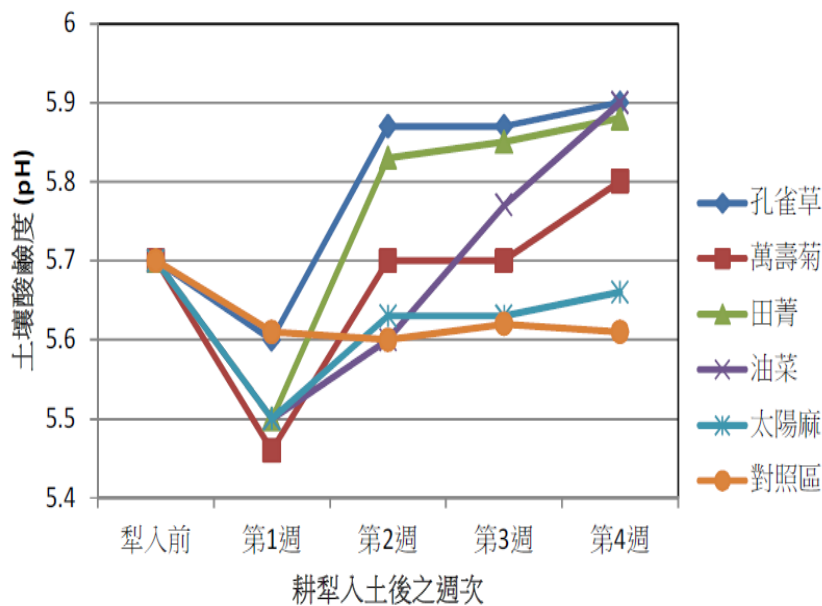


圖 3.5 種綠肥耕犁入土後之土壤酸鹼度變化

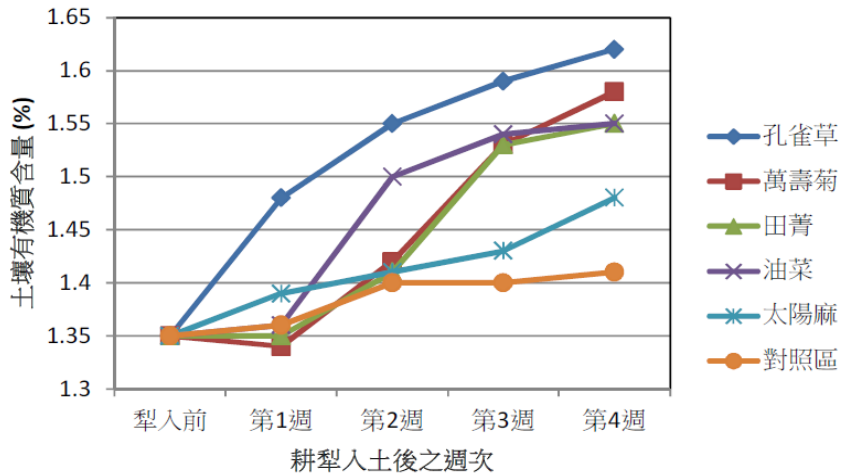


圖 4.5 種綠肥耕犁入土後之土壤有機質含量變化

作物生長環境的變化對產量及品質影響，研究顯示：木瓜網室內、外及塑膠布敷蓋下 10 cm 深之土溫，分別可高達 42.4°C、36.8°C 及 36.1°C；網室內、外之溫差介於 5.3-6.0°C，而網室內與表土 10 cm 深之溫差則可達 6.2-11.2°C (圖 5)；但溫差與土壤肥力雖無顯著相關，却影響作物的養分吸收及果實品質。木瓜葉部之 N 營養濃度會隨溫度上升，與土壤溫度呈極顯著正相關，然 Ca 及 Mg 養分濃度則呈極顯著負相關 (表 2)。果實品質上，終年果長平均以 7 月的果實最長顯著於其他月份，平均果寬以 3 月優於其他月份，平均單果重則以 3 月、4 月及 7 月顯著優於其他月份，果實可溶性固形物則以 5 月之果實顯著高於其他月份，可達 13.9 °Brix，且果實可溶性固形物對葉部 N 與 K 養分濃度間，分別形成顯著負相關與正相關，當果肉養分濃度 N/K 介於 0.43-0.44，果實可溶性固形物較高 (表 3)。此外，調查顯示：農民之木瓜過量施肥，加速土壤酸化，EC 值上升 (圖 6)。

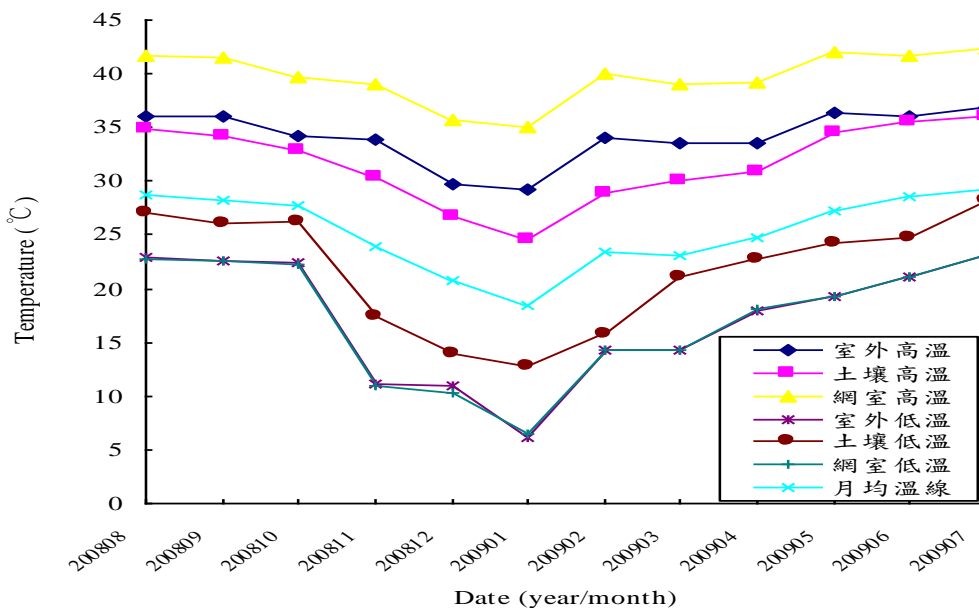


圖 5. 木瓜園區環境溫度變化圖

表 2. 環境溫度變化與木瓜中位葉養分間相關性分析

	N	P	K	Ca	Mg	A.T	T.D
N	1.000						
P	0.122	1.000					
K	-0.003	0.009	1.000				
Ca	-0.500**	0.103	0.186	1.000			
Mg	-0.152	0.135	0.007	0.402**	1.000		
A.T	0.502**	-0.001	0.019	-0.488**	-0.288**	1.000	
T.D	-0.331**	-0.066	0.058	0.188	0.115	-0.654**	1.000

A.T=average temperature; T.D=temperature difference of soil; ** statistically very significant ($p \leq 0.01$)

表 3. 不同月份木瓜果實品質變化(n=9)

Year month	Fruit quality				
	Fruit length (cm)	Fruit width (cm)	Fruit wt. (g)	Total soluble solids ($^{\circ}$ Brix)	Pulp N/K
200810	24.8 ^{b1}	8.6 ^c	689.1 ^e	10.3 ^f	0.76
200811	25.2 ^{ab}	9.9 ^a	916.7 ^b	12.4 ^c	0.60
200812	24.2 ^{bcd}	9.3 ^b	803.4 ^{cd}	12.0 ^d	0.58
200901	23.1 ^{de}	8.8 ^c	757.7 ^{de}	11.9 ^d	0.50
200902	23.2 ^{de}	8.4 ^c	782.9 ^{de}	11.8 ^d	0.36
200903	24.5 ^{bc}	10.3 ^a	1028.7 ^a	11.3 ^e	0.37
200904	24.6 ^{bc}	10.2 ^a	1059.1 ^a	12.9 ^b	0.43
200905	23.5 ^{cde}	10.0 ^a	982.5 ^{ab}	13.9 ^a	0.44
200906	22.8 ^e	9.9 ^a	893.3 ^{bc}	12.8 ^{bc}	0.44
200907	26.2 ^a	10.0 ^a	1032.7 ^a	10.9 ^e	0.59

¹ Means with different letters within the same column differed significantly ($p \leq 0.05$)

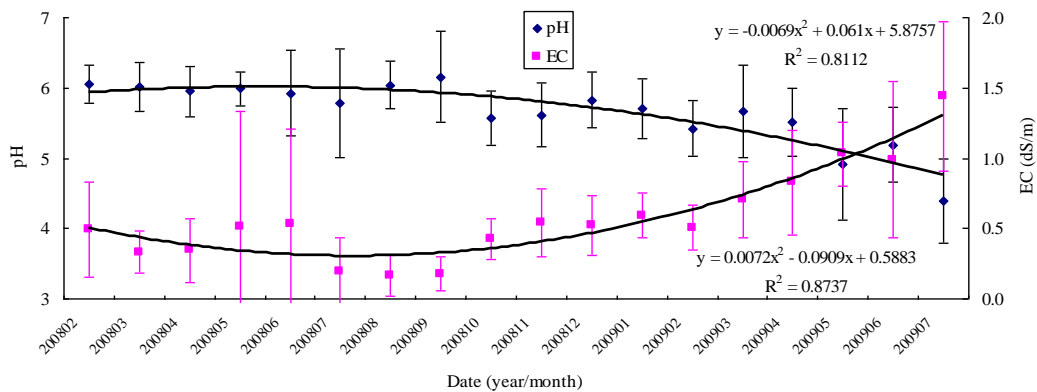


圖 6. 木瓜不同月份表土 pH 及 EC 變化圖

二、作物合理化施肥及植體營養診斷

毛豆接種根瘤菌，並調整氮肥施用量進行合理化施肥，以提高合格夾收穫量，由試驗結果可知（表 4），毛豆接種根瘤菌在氮肥施用量 60 kg / ha 情況下，可有最佳之合格夾收穫量。

表4. 不同氮肥施用量對毛豆接種根瘤菌農藝性狀之影響 (n=20)

處理/氮肥量 (kg/ha)	株高(cm)	節數	分枝	合格莢數%	合格莢重 (g/m ²)	
根	20	30.0	7.0	3.3	58.3bc	660.0c
瘤	40	29.7	7.3	3.0	60.6b	680.0bc
菌	60	31.0	6.7	3.0	76.1a	843.3a
組	80	34.5	6.7	3.0	52.4c	686.7
對 照 組	20	34.5	7.5	3.0	56.0bc	730.0b
	40	32.0	6.5	2.5	52.0c	697.5bc
	60	30.8	6.0	3.0	55.2bc	735.0b
	80	27.8	6.0	3.5	55.8bc	730.0b

註：相同之同行間英文字母不同表示，差異顯著 (p≤0.05)

在木瓜及愛文芒果合理化施肥方面，藉由轄區內生育良好之田區，進行作物植體營養分析，以建立植體營養診斷標準，提供農民田區施肥參考。在木瓜方面於高屏地區選擇重要產區共 35 個管理良好之木瓜田區，每月定期進行葉片營養診斷，已建立木瓜葉片植體營養診斷標準 (表 5)。此外，依據 2013~2015 年調查高屏地區愛文芒果最大 3 個產區 (枋寮、枋山及獅子地區)，不同樹齡之愛文芒果，每月葉片營養分析進行年平均統計，建立愛文芒果營養診斷標準 (表 6)。

表5. 高屏地區不同月份木瓜中位葉養分濃度變化 (數值為35重複平均值)

Date Year Mont h	Nutrient concentration									
	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Cu	Zn	Na
	-----%-----					----- mg kg ⁻¹ -----				
201211	4.76	0.41	2.51	1.82	0.99	52.25	248.00	19.45	60.39	254.72
201212	5.04	0.35	2.10	2.01	0.86	49.18	201.56	21.96	52.92	194.35
201301	5.17	0.38	2.41	2.43	1.06	40.84	206.90	22.39	50.73	286.80
201302	4.64	0.36	2.07	2.31	0.99	42.44	428.53	34.73	66.44	390.56
201303	4.62	0.32	1.83	2.41	0.99	34.06	390.50	30.75	64.74	208.77
201304	4.88	0.36	1.99	2.88	1.14	53.35	259.11	28.81	39.83	313.75
201305	5.29	0.40	2.23	2.86	1.03	69.53	251.69	10.98	33.83	292.03
201306	4.55	0.37	1.91	2.64	1.07	64.42	203.24	17.53	37.13	254.37
201307	4.81	0.40	1.96	2.84	1.13	71.03	194.85	17.96	34.51	150.72
201308	4.44	0.33	1.79	2.06	0.96	67.32	156.05	18.24	30.57	154.19
201309	5.38	0.40	1.95	1.99	0.86	54.13	157.39	20.93	31.02	147.03
201310	5.27	0.39	2.20	1.98	0.91	46.23	265.10	20.52	36.45	155.80
年平均	4.91	0.37	2.07	2.36	1.00	54.47	242.88	21.79	43.88	231.19

表 6. 高屏地區愛文芒果重要產區葉片養分濃度變化

葉片養分濃度										
N	P	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Cu	Zn	Na	B
-----%					-----mg kg ⁻¹ -----					
枋寮地區愛文芒果葉片養分濃度 (樹齡 6~8 年)										
2.06~ 2.19	0.13~ 0.16	0.67~ 0.74	1.49~ 1.53	0.09~ 0.12	230~ 296	53~ 54	12.8~ 13.6	19.8~ 20.3	340~ 373	24.0~ 29.3
枋山地區愛文芒果葉片養分濃度 (樹齡 20 年以上)										
2.50~ 2.56	0.15~ 0.17	1.02~ 1.05	1.86~ 2.11	0.24~ 0.29	73~ 157	60~ 74	9.4~ 21.9	61~ 66	731~ 774	41.0~ 48.5
獅子地區愛文芒果葉片養分濃度 (樹齡 15 年以上)										
2.40~ 2.46	0.13~ 0.16	1.01~ 1.07	1.53~ 1.64	0.26~ 0.28	242~ 248	71.0~ 74.3	24.5~ 42.8	22.5~ 26.8	508~ 552	25.8~ 30.3

旗南分場長期執行有機農法試驗田生產及土壤監測，目前持續進行中，田間採二種輪作制度（水旱田輪作及早田輪作）及三種農耕法（慣行法、有機法及折衷法）共組合為六種處理。以 104 年各季作物產量比較（表 7），水旱田輪作之春作有機水稻產量高於折衷法與慣行法，然夏季與秋季之作物產量則反之；旱田輪作系統，在春季及夏季之產量，均以有機法為較佳，但在秋作產量為最差。比較甘藍於不同輪作系統之產量以旱田輪作較高，可能與前期作種植綠肥作物有關。

表 7. 不同輪作系統以不同施肥模式處理之各季節作物產量

處理	水旱田輪作產量(t ha ⁻¹)			旱田輪作產量(t ha ⁻¹)		
	春作水稻	夏作水稻	秋作甘藍	春作甜玉米	夏作田菁	秋作甘藍
有機區(OF)	7.84	3.86	59.9	15.77	35.0	80.9
折衷區(IF)	7.65	4.19	62.0	14.57	33.3	86.1
慣行區(CF)	6.46	4.34	77.3	13.98	34.5	85.3

三、菌根菌培育及其應用

叢枝菌根菌是可與植物共生，同時促進植物生長、抗逆境、增加養分及水分吸收等效益的真菌，在當前需要減少化學肥料的農業下，為土壤重要微生物群之一。然而叢枝菌根菌無法單獨在人工合成培養基生長，其大量孢子對孢子萌發和儲藏研究是非常重要的，為生產大量接種劑以應未來之利用，故本場探討叢枝菌根菌之孢子繁殖、育苗及田間之應用。

研究顯示：不同 pH 介質下，KMGs、KMGm、KMGe 等菌種對 pH 之耐受性範圍較廣(pH 5-8)，KMGi 在 pH 8 的介質中明顯低於 pH 5-7 之處理，KMEk 在 pH 5 條件下的產孢數量最少（表 8）。不同砂粒粒徑條件下繁殖培養，KMGs

以 0.20-0.45 mm 有最佳之產孢效果，KMGe 及 KMGm 則於 0.40-0.80 mm 有最佳之產孢表現(表 9)。木瓜接種 3 種不同菌根菌處理定植田間 4 個月後，以 KMGe，在肥料變級 N : P₂O₅ : K₂O=90 : 100 : 120 (g/plant/yr) 之處理中，有最高之菌根菌產孢量 (表 10)。以玉米作為宿主，KMT、KMI、KMK 及 KME 於 16 種不同介質中進行產孢試驗，4 個菌種的菌根感染率均與介質有效性磷有負相關性 (表 11)，產孢量與介質有效性鉀呈顯著正相關，同時以介質 10 之表現最佳，能與作物共生結合，並形成具有叢枝體與囊狀體之典型囊叢枝菌根，明顯優於市售栽培介質 (圖 7)。

表 8. 不同 pH 之培養介質其菌根菌種產孢數目比較

treatment	A (pH8)	B (pH7)	C (pH6)	D (pH5)
	(spore/g-soil)			
KMGm	61±8ab*	57±6ab	66±6a	54±9ab
KMGe	91±10ab	93±7ab	96±11a	98±13a
KMEk	64±8a	59±7ab	66±8a	45±6b
KMGi	56±13b	81±9a	87±9a	76±11ab
KMGs	105±14a	99±9ab	103±10a	107±9a

*菌種相同之同行間英文字母不同表示，差異顯著 (p≤0.05)

表 9. 不同粒徑及菌根菌種產孢數目比較

菌種處理	KMGs	KMGe	KMGm	土壤含水量%
	Spore number (spore/g-soil)			
0.2-0.45mm	46±7a*	28±6c	32±7b	26.6
0.4-0.8mm	38±9ab	54±9a	49±6a	23.5
0.6-1.2mm	30±5b	47±7ab	40±8ab	16.3

*英文字母不同表示，差異顯著 (p≤0.05)

表 10. 木瓜接種處理定植田間 4 個月後於不同磷肥變級處理下菌種產孢量變化

處理	N : P ₂ O ₅ : K ₂ O (g/plant/yr)				
	90 : 50 : 120	90 : 100 : 120	90 : 150 : 120	90 : 200 : 120	
產孢	Ck	7.6±3.5c*	5.3±2.3b	6.6±3.5b	4.7±1.3c
數 (spore/ 10g-soil)	KMGm	32.3±15.7ab	41.0±16.7ab	50.3±21.3a	49.3±19.5a
	KMGs	49.3±17.5a	47.7±21.5a	44.7±18.7a	36.0±14.0ab
	KMGe	36.7±21.7ab	51.7±23.7a	49.3±17.5a	38.3±21.7ab

*同列英文字母不同表示，差異顯著 (p≤0.05)。

表11. 4種菌根菌產孢特性與不同介質之礦質養分間相關性分析

	pH	OM	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn	Na	EC	KMI產 孢量	KME產 孢量	KMK產 孢量	KMT產 孢量
pH	1															
OM	0.541*	1														
P	0.511*	0.585*	1													
K	0.685**	0.607*	0.842**	1												
Ca	0.687**	0.364	0.760**	0.908**	1											
Mg	0.694**	0.413	0.790**	0.937**	0.997**	1										
Fe	0.769**	-0.008	0.166	0.276	0.466	0.434	1									
Mn	0.688**	0.394	0.746**	0.905**	0.982**	0.980**	0.476	1								
Cu	0.704**	-0.058	0.157	0.313	0.573*	0.529*	0.953**	0.590*	1							
Zn	0.573*	0.004	-0.096	0.002	0.157	0.125	0.811**	0.210	0.788**	1						
Na	0.543*	0.577*	0.829**	0.975**	0.862**	0.894**	0.087	0.845**	0.142	-0.175	1					
EC	0.528*	0.544*	0.826**	0.969**	0.875**	0.904**	0.088	0.855**	0.152	-0.201	0.997**	1				
KMI產孢量	0.420	0.348	0.638**	0.714**	0.710**	0.720**	0.097	0.674**	0.191	0.075	0.756**	0.730**	1			
KME產孢量	0.531*	0.344	0.403	0.572*	0.620*	0.621*	0.422	0.653**	0.467	0.148	0.467	0.505*	-0.022	1		
KMK產孢量	0.668**	0.531*	0.641**	0.871**	0.803**	0.820**	0.379	0.828**	0.428	0.109	0.818**	0.819**	0.468	0.671**	1	
KMT產孢量	0.555*	0.567*	0.598*	0.611*	0.418	0.464	0.162	0.351	0.034	-0.025	0.569*	0.551*	0.333	0.364	0.536*	1

*statistically significant ($p \leq 0.05$); ** statistically very significant ($p \leq 0.01$)

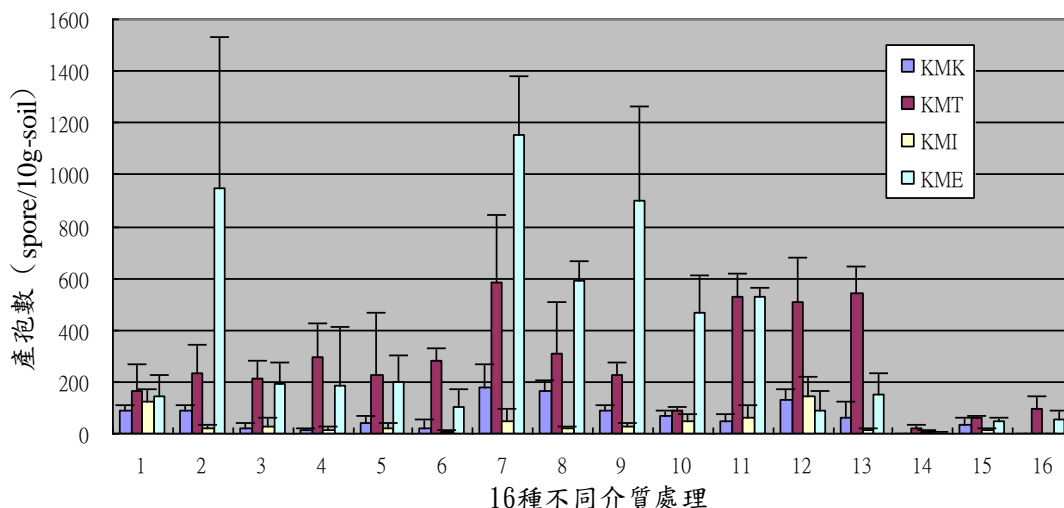


圖 7. 玉米接種 4 種菌根菌種於 16 種介質中菌根菌產孢比較

為便於農民及育苗場之應用，開發有益微生物育苗介質為一趨勢，藉由育苗介質添加叢枝菌根菌，以瞭解叢枝菌根菌在高濕環境下活性變化，並以茄科作物育苗比較其幼苗生長與田間移植存活率。結果顯示：V7、V8 及 V10 介質添加叢枝菌根菌後，放置 1、4 及 6 個月後進行育苗，均可使茄科作物菌根感染率達 75% 以上，並以 V10+VAM 處理能有最佳之育苗表現（表 12）。此外在田間移植存活率表現方面，接種 VAM 處理培育之茄子、彩椒及番茄，均比對照組有較佳之移植存活率表現（表 13）。

表 12. 介質混合叢枝菌根菌置放不同時間後茄子育苗根系菌根感染率比較

處理 \ 菌根感染率%	V7+AMF	V8+AMF	V10+AMF	P+AMF
介質 1 個月	93%	90%	100%	90%
混合 4 個月	80%	80%	90%	80%
AMF 6 個月	75%	77.5%	87.5%	75%

註：P 為市售介質，AMF：叢枝菌根菌，V7、V8、V10 為開發之介質。

表 13. 不同介質育苗 3 種茄科作物田間定植 4 週後存活率比較

移植存活率	V7+VAM	V8+VAM	V10+VAM	P (CK)
茄子	95.48a	95.38a	98.70a	92.19a
彩椒	88.75b	93.75ab	96.69a	73.75c
番茄	97.5a	100a	100a	88.18b

註：同行間英文字母不同表示，差異顯著 ($p \leq 0.05$)；P 為市售介質，AMF：叢枝菌根菌，V7、V8、V10 為開發之介質。

木瓜幼苗接種 3 種菌根菌處理進行水分逆境比較，以接種 KMs 之木瓜於水分逆境下，介質飽水狀態下仍可維持木瓜存活率達 92%（表 14）。此外，木瓜接種叢枝菌根菌定植於連作田中，相較於未接種者可提早 13 天果實採收，並提高

單果長度及重量，降低果實始花位置（表 15）。另於環境逆境及木瓜根腐病之耐受力評估，將接種菌根菌木瓜幼苗雨季期間定植於 3 種不同田間清園整理之連作田中，經雨季過後調查幼苗感病死亡百分率，不整地之 2 年生木瓜園，接種處理與對照組分別為 15.5% 及 22.5%；經重新整地之連作田，所有植株均未感病死亡；不整地但清除地上殘株之連作田，接種 *Glomus etunicatum* 處理之死亡率為 30%，然對照組感病死亡率達 75%（表 16）。

表 14. 木瓜幼苗不同接種處理對水分逆境之影響

菌種處理	4 週	6 週	8 週
	木瓜幼苗存活率%		
對照組	62±5c*	10±3d	0c
KMs	92±4a	30±2a	2±1b
KMe	66±6bc	24±3b	4±2a
KMm	78±6b	18±4bc	0c

*英文字母不同表示，差異顯著 ($p \leq 0.05$)

表 15. 木瓜接種叢枝菌根菌處理定植連作田生長性狀調查

處理	開始採收天數	始花高度 (cm)	開始採果植株高度 (cm)	果長 (cm)	果寬 (cm)	果重 (cm)	可溶性固形物 °Brix
CK	190	66.8±2.8a	193.25±10.3a	19.7±2.4a	7.2±1.0a	443.2±177.8ab	14.1±1.1a
AMF	177	65.6±3.1a	184.5±7.7b	21.3±2.4a	7.7±0.7a	537.3±120.3a	13.9±1.0a
差異	-13	-1.2	-8.75	1.6	0.5	94.1	-0.2

註：同列英文字母不同差異顯著 ($p \leq 0.05$)，AMF：叢枝菌根菌，CK 為對照組。

表 16. 在雨季期間不同田間衛生管理下接種菌根菌之木瓜發病死亡率 (%) 比較

處理	重新整地處理		不整地處理			
	田間清園翻耕改良		清除地上殘株		2 年生木瓜園補植	
	8 月	9 月	8 月	9 月	5 月	6 月
CK	0	0	40.00c	75.00c	17.50b	22.50a
VAM	0	0	22.50ab	45.00b	10.00a	15.50a
Gm	0	0	17.50a	45.00b	ns	ns
Ge	0	0	17.50a	30.00a	ns	ns
Gi	0	0	30.00b	75.00c	ns	ns
Gs	0	0	30.00b	72.50c	ns	ns
Ek	0	0	40.00c	67.50c	ns	ns

註：CK：對照組，Ek：接種 *Entrophospora kentinensis*，Gs：接種 *Glomus spurgum*，Gi：接種 *G. intraradices*，Gm：接種 *G. mosseae*，Ge：接種 *G. etunicatum*，VAM：接種混合前述 5 種菌種。

高屏地區愛文芒果田間的土壤中，分離出 *G. intraradices*、*G. mosseae* 及 *Sclerocystis* sp.等 3 種為優勢菌種，並已完成繁殖培養，草種選擇可與菌根菌形成良好共生之雷公根 (*Centella asiatica*)、蔓生花生 (*Arachis pintoi*)、蠅翼草 (*Desmodium triflorum*)、過江藤 (*Phyla nodiflora*)、高麗芝 (*Zoysia tenuifolia*) 及心葉水薄荷 (*Clinopodium brownei*) 等 5 種。並以接種叢枝菌根菌之草種栽培於芒果園田間，相較於無草生栽培之處理，可有利於土壤有機質的提升，並提高葉片 P 及 K 之濃度；當土壤中叢枝菌根菌孢子密度越高，將更有利於提高植物葉部養分濃度，同時提高芒果果長及果重，並降低炭疽病之發生 (表 17)。

表 17. 不同地區芒果園地被接種菌根菌草種處理果實品質變化 (n=12)

處理	Fruit quality±SD				
	Fruit length (cm)	Fruit width (cm)	Fruit wt. (g)	Total soluble solids (°Brix)	炭疽病比例%
枋寮地區					
草生 AMF	10.7±1.1	8.0±0.7	328.6±101.3	12.9±2.2	33
非草生	10.5±1.2	8.0±0.9	316.6±104.9	13.1±3.5	50
枋山地區					
草生 AMF	11.0±1.3	8.5±0.7	389.8±105.4	11.7±1.7	25
非草生	10.9±0.7	8.5±0.5	375.0±64.7	10.9±1.3	30
獅子地區					
草生 AMF	11.1±0.9	8.4±0.5	391.1±75.2	14.7±2.3	5
非草生	10.8±1.0	8.3±0.6	334.7±87.1	12.8±2.5	16

註：AMF 接種叢枝菌根菌。

四、農產廢棄物再利用

農業廢棄物如稻殼、稻稈等不易分解，直接施用於農田時，分解過程中易與作物競爭養分，因此常需經處理而後用。

調查市售之碳化稻殼結果，主要有兩類，一為低溫生成的碳化稻殼，保留較多的碳結構，pH 值為 7.81，另一為碾米廠利用稻殼燃燒作為熱源所生成，因過程為高溫燃燒，表面之酸性官能基被移除，僅剩鹼性陽離子，故呈現相對較高之 pH 值 10.3 (表 18)。

表 18. 不同稻殼之基本性質分析

處理代號	充氣孔隙度	容水量	總體密度	pH ^a	EC ^b
	%	%	g/cm ³		ds/cm
稻殼	0.45	19.9	0.09	6.34	0.28
高溫碳化稻殼	0.04	66.9	0.14	10.3	0.51
低溫碳化稻殼	0.27	41.3	0.09	7.81	0.32

^a 試驗材料及水比例為 1:10 ^b 試驗材料及水比例為 1:50

小果番茄田區施用 240-480 kg / 0.1 ha 不同種類炭化稻殼，可增加土壤有效性磷及鉀之含量，與無施用之土地相較之下亦有較低之鈉含量 (表 19)，說明炭化稻殼可維持作物所需之營養元素，在取代有機質肥料之施用下，可減少土壤鹽化程度，進而延長溫室土耕之壽命。果實品質調查顯示：施用炭化稻殼可提高果實可溶性固型物 0.5-0.7 °Brix (表 20)，且可穩定其生產品質，農民可獲得較高之收入，預計小果番茄單位公斤售價可提升 10-20 元。

表 19. 小果番茄園區施用不同種類炭化稻殼之土壤營養分析

處理代號	pH	O.M.	P	K	Ca	Mg	Fe	Na	E.C.	
	(1:1)	%	-----mg/kg-----							(1:5)mS/cm
試前土	7.30	1.13	42	105	4096	368	635	100	0.48	
高溫炭化稻殼	240 kg	7.85	1.71	67	179	4218	419	351	172	0.57
	480 kg	7.98	1.73	57	127	4109	425	362	140	0.52
低溫炭化稻殼	240 kg	7.96	1.87	57	100	3702	346	322	183	0.62
	480 kg	7.78	1.98	56	103	3688	347	343	234	0.82
CK	7.76	1.80	49	98	4168	432	384	263	0.91	

表 20. 小果番茄園區施用不同種類炭化稻殼之果實品質分析

處理代號/0.1ha	單粒重	果長	果寬	可溶性固形物	
	g	cm	cm	Brix	
高溫炭化稻殼	240 kg	9.02±0.80	3.57	2.02	10.70±1.00
	480 kg	9.26±1.15	3.71	2.02	10.62±1.07
低溫炭化稻殼	240 kg	10.21±0.85	3.74	2.10	10.98±1.01
	480 kg	9.65±1.07	3.90	2.09	10.90±0.64
對照組		12.01±1.13	4.16	2.19	10.25±1.31

炭化稻殼可增加甜瓜園區土壤中碳含量及有效性磷、鉀之含量 (表 21)，同時穩定水分變化。甜瓜園區施用炭化稻殼 120-240 kg / 0.1ha，可有效控制氮素及氧化鉀之比例，葉片相對較小且厚，裂果率也較低，然果品無顯著差異，平均單果重約 450-550 g，可溶性固型物約 14.24 °Brix (表 22)。棗園區內每株施用 10 kg 炭化稻殼，單果重甜度約 13.83 °Brix，平均單果重達 90 g 以上約佔 91% (表 23)。

新鮮稻殼利用檸檬酸表面修飾技術可提高陽離子交換容量至 113 cmol kg⁻¹ (表 24)；其與假堆稻殼混合，用於火鶴盆花 (表 25)，結果顯示：添加 25-50% 假堆稻殼或 25% 修飾稻殼混慣行栽培介質，不會明顯降低植株出盆品質，然添加 50% 假堆稻殼或 25-50% 修飾稻殼至慣行栽培介質則會延後花苞片成熟時間。建議種植火鶴盆花，可混合 25% 假堆稻殼，可有效利用農產廢棄物稻殼，同時亦可達到節省成本之目的。

表 21. 甜瓜園區施用炭化稻殼之土壤肥力分析

處理代號/0.1 ha	pH	O.M.	P	K	Ca	Mg	Fe	Na	E.C.	
	(1:1)	%	-----mg/kg-----							(1:5) mS/cm
試前土	7.53	1.67	135	81	2505	215	431	97	0.48	
7 月 16 日	120 kg	7.73	1.52	96	85	2525	267	340	127	0.22
	240 kg	7.94	1.33	95	108	3086	299	333	111	0.23
	360 kg	7.73	1.29	86	96	3178	277	340	126	0.22
	CK	7.67	1.32	78	91	2834	294	346	162	0.44
8 月 2 日	120 kg	7.66	2.10	78	81	2397	223	376	84	0.20
	240 kg	7.74	2.21	81	94	2534	247	394	83	0.19
	360 kg	7.80	2.00	74	82	2748	228	374	98	0.20
	CK	7.73	2.00	74	71	2758	241	392	116	0.32

表 22. 甜瓜園區施用炭化稻殼之果實品質分析

處理	單粒重	可溶性固形物
	g	°Brix
120 公斤/分地	452.92±61.42	14.24
240 公斤/分地	448.46±61.71	14.52
360 公斤/分地	418.67±84.98	14.70
對照組	451.67±55.61	14.12

表 23. 棗田區施用炭化稻殼之果實品質分析

處理	分級比例(%)				可溶性固形物
	150 克↑	120-150 克	90-120 克	90 克↓	°Brix
5 公斤/棵	6.0	30.4	45.9	17.8	14.48±1.76
10 公斤/棵	7.6	40.5	42.8	9.0	13.83±1.16
15 公斤/棵	2.5	25.9	50.1	21.4	13.97±1.93
20 公斤/棵	7.8	33.9	41.0	16.0	14.05±1.35
對照組	2.4	20.6	39.1	37.9	14.27±1.40

表 24. 火鶴替代性栽培介質基本性質

介質種類	pH	EC	最大保水量(%)	CEC(cmol/kg)
基礎介質*	6.58a	0.12g	11.1b	30.8e
修飾稻殼	4.36g	0.70c	6.2d	112.9a
新鮮稻殼	6.01b	0.84b	8.5c	50.4d
假堆稻殼*	5.11e	1.15a	17.1a	72.2c
假堆稻殼 25%	5.46c	0.34e	11.1b	46.0d
假堆稻殼 50%	5.32d	0.52d	10.6bc	52.2d
修飾稻殼 25%	6.51a	0.19f	8.9c	68.7c
修飾稻殼 50%	4.98f	0.36e	12.1b	79.9b

註：基礎介質：為椰塊與泥炭土以 3:1(v/v)混合之介質；假堆稻殼：新鮮稻殼經 3 個月假堆所得之稻殼。

表 25. 種植於不同栽培介質之火鶴盆花各種性狀調查結果

介質種類	株高(cm)	葉片長度 ^a (cm)	葉片寬度 ^b (cm)	花梗長度 ^c (cm)	花苞片寬度 ^d (cm)	肉穗花序 長度 ^e (cm)
基礎介質	21.9a	19.1a	11.5ab	22.2a	8.0a	4.3a
假堆稻殼 25%	23.4a	19.6a	12.1a	21.9a	7.9a	4.2a
假堆稻殼 50%	21.0a	18.4a	10.9ab	18.8a	7.1a	4.0a
修飾稻殼 25%	21.8a	18.7a	11.4ab	23.8a	8.3a	4.0a
修飾稻殼 50%	17.5b	17.6a	10.5b	20.3a	8.5a	4.0a

註：^a第3朵花苞片前1片葉之長度；^b第3朵花苞片前1片葉之寬度；^c第3朵花苞片之花梗長度；^d第3朵花苞片之寬度；^e第3朵花苞片之肉穗花序長度

五、農產品重金屬含量監測管理和應用

農產品品質與安全問題受到社會大眾廣泛的關注，政府對於農產品安全的掌握，在土壤重金屬污染的農產品品質安全管制上，應積極釐定土壤環境品質的評價方法或污染表徵判定，特別是作物利用農田土壤有效態重金屬作為評價標準的問題，並製訂出更合理的模式，例如以有效態為基礎的土壤環境品質標準。

蔬菜栽培過程中大量施用含氮（化學或有機）肥料，將導致蔬菜硝酸鹽含量過高致危害人體，長期食用含有過量硝酸鹽的蔬菜，可能因為硝酸鹽轉變為亞酸鹽，而與血紅素反應代謝生成過多的變性血紅素；另一方面，硝酸鹽造成內生性氮-亞硝基化合物的合成，其有導致癌症、畸胎及突變的可能，有影響人體健康的潛在疑慮，故蔬菜之硝酸鹽含量值得加以監測。

自民國100年至民國103年已完成高屏地區監測採樣數共計800點，監測區域包括高雄市美濃區、旗山區、梓官區及屏東縣屏東市、萬巒鄉、萬丹鄉、枋山鄉、恆春鎮等區域；蔬菜種類則包括葉菜類、絲瓜、茄子、苦瓜、洋蔥、紅蘿蔔、南瓜及胡瓜等。監測蔬菜樣本之重金屬及硝酸鹽、亞硝酸鹽的含量，同時分析土壤重金屬、全氮及有效氮等養分變化，確保蔬菜食用安全及維持永續農業發展。目前搭配GPS進行調查資料庫之建立，且完成分析之土壤及植體樣品，皆低於管制級食用標準，期在建立生產過程與最終農產品的品質相關性下，以達到更具時效性的管理及監測。

結論

高屏澎地區範圍廣大，土地特性不均一，農作物種類亦繁多，需長期研究探討才得以有較好的農作物栽培過程。本場為改善作物生產環境與作物品質，進行多方向之研究，以提高農田土地利用效益，更甚因應國際趨勢減少碳足跡而研發替代栽培介質，均在不改變或提高作物品質及產量的狀況下，減少農民在肥料及栽培介質上的生產成本，感謝提供本場試驗農田的農民，以及土壤肥料相關之研究員付出，另於尚不足之研究將再精進，以提供土壤肥料相關更好的技術或產品，

利於永續農業之發展。

參考文獻

1. 中華土壤肥料學會 1995 土壤分析手冊。臺灣省農林廳。pp.489。
2. 吳繼光、林素禎 1998 叢叢枝內生菌根菌應用技術手冊。台灣省農業試驗所印行。pp.232。
3. 林永鴻、許珮真 2012 高屏地區重要作物之土壤與肥培管理技術研究。行政院農業委員會高雄區農業改良場101年度科技計畫研究報告。
4. 林永鴻 2013 果園草生栽培及不同綠肥對後期作物的影響。行政院農業委員會高雄區農業改良場102年度科技計畫研究報告。
5. 林永鴻 2014 蓮霧園草生栽培技術研究。行政院農業委員會高雄區農業改良場103年度科技計畫研究報告。
6. 林永鴻 2015 高屏地區草生栽培棗園肥培管理模式之建立。行政院農業委員會高雄區農業改良場104年度科技計畫研究報告。
7. 高雄區農業改良場100年-104年年報之土壤肥料篇章
<http://www.kdais.gov.tw/view.php?catid=411>
8. 胡智傑、黃雅玲 2014 替代性栽培介質對生產高品質火鶴盆花之影響。行政院農業委員會高雄區農業改良場103年度科技計畫研究報告。
9. 張耀聰 2011 土壤溫度對木瓜礦質養分吸收及果實品質之影響。行政院農業委員會高雄區農業改良場研究彙報。19 (2): 43-57。
10. 張耀聰 2012 菌根菌應用於育苗技術之開發。行政院農業委員會高雄區農業改良場101年度科技計畫研究報告。
11. 張耀聰 2013 木瓜接種叢枝菌根菌在連作田生育之影響。土壤微生物與生態推動小組 99-101 年計畫盤點成果研討會。P51-62。
12. 張耀聰 2014 叢枝菌根菌接種應用對芒果生育之影響。2014 年農業環境領域土壤微生物與生態推動小組研究成果發表研討會論文集。P129~142。
13. 張耀聰 2015 菌根菌應用技術對高屏地區芒果生育之影響。生物性肥料開發應用及土壤微生物生態研究之回顧與展望研討會。行政院農業委員會農業試驗所編印。P59~74。
14. 張耀聰 2015 茄科作物有益微生物育苗介質開發。行政院農業委員會高雄區農業改良場104年度科技計畫研究報告。
15. 張耀聰、曾敏南、張廖伯勳 2015 木瓜幼苗接種叢枝菌根菌對土壤病害防治之探討。中華植物保護學會民國104年年會暨論文宣讀。
16. 蘇博信 2014 農產品安全先期評估技術於葉菜類重金屬含量管理之應用。行政院農業委員會高雄區農業改良場103年度科技計畫研究報告。
17. 蘇博信 2015 農產廢棄物稻殼稻稈多元利用之可行性研究。行政院農業委員會高雄區農業改良場104年度科技計畫研究報告。

臺東地區合理化施肥技術之應用

張繼中^{1,*} 廖勁穎¹ 黃文益¹

¹ 行政院農業委員會臺東區農業改良場

*E-mail: 720@mail.ttdares.gov.tw

摘 要

本研究旨在溶磷菌、菌根菌、有機質肥料等資材，進行試驗研究，探討對土壤及番荔枝植株之影響。番荔枝果園施用溶磷菌試驗結果顯示，土壤及葉片營養元素含量均以施用溶磷菌處理優於對照組，而番荔枝果實單果重亦以施用溶磷菌處理表現較佳。復耕番荔枝果園接種菌根菌試驗結果顯示，不論有無接種菌根菌，施用化學肥料及有機質肥料可提升復耕果園土壤營養元素含量，而接種菌根菌可提升部分番荔枝苗木植體營養元素含量，苗木生育調查顯示接種菌根菌，可促進番荔枝苗木生長，並與植體葉片分析結果相呼應。復耕番荔枝果園施用化學肥料及有機質肥料後，可提升復耕果園土壤有機質及營養元素含量；植株產量以施用有機質肥料及化學肥料處理顯著優於只施用化學肥料之處理，復耕番荔枝果園施用有機質肥料後，可提升番荔枝單株產量，較對照組可增加 2.9~3.4 公斤。顯示復耕番荔枝果園施用有機質肥料及化學肥料後可促進番荔枝生長。

關鍵詞：溶磷菌、菌根、有機質肥料、番荔枝

前 言

合理化施肥技術除了依據三要素肥料用量推薦及利用土壤及葉片營養診斷分析來合理施用肥料之外，也包括其他可以提高產量及品質之土壤肥料技術，例如土壤改良資材及有益微生物的使用等。土壤改良資材是指可以改善土壤理化性及增進土壤地力的物質，例如可增進土壤保肥力、保水性，改善土壤酸性問題，直接補充土壤營養元素或增進其有效性，促進團粒構造的形成等。土壤改良資材大致可分為有機及無機兩類，無機的土壤改良資材有珍珠石、蛭石、沸石、苦土石灰、砂土、矽藻土、麥飯石、矽酸爐渣等；而有機的土壤改良資材則有稻稈、堆肥、綠肥、碳化資材如碳化稻殼、碳化柴魚粉等，有許多試驗報告顯示施用土壤

改良資材對土壤及作物生產有正面的影響。施用苦土石灰可提升酸性土壤之酸鹼值，山葵如種植於酸性土壤，經施用苦土石灰後，山葵全株鮮重及根莖鮮重可顯著提升(王等, 1996)。蔡等(2008)試驗結果顯示施用蔗渣木屑堆肥、有機液肥及苦土石灰可增加洋桔梗之切花花梗長及花苞數。Kaye 等(2007)報告高粱與大豆輪作，其產量較未與大豆輪作者高，顯示種植綠肥可影響產量及土壤地力，也有研究報告指出在種植高粱時，施用堆肥可增加土壤元素含量(Binder et al., 2002)。而土壤中添加碳化資材可改善土壤的理化性，如土壤的總體密度、土壤中的營養元素有效性(Lehmann et al., 2003; Yamato et al., 2006)，也可降低土壤溫室氣體如甲烷、氧化亞氮的排放(Rondon et al., 2005; Yanai et al., 2006)。Novak 等人(2009) 研究報告指出添加 2% 的生物碳(biochar)可提升壤質砂土的酸鹼值及鈣、鉀營養元素含量。在酸性土壤，矽酸爐渣施用可提高水稻產量及降低病蟲害(連深及王鐘和, 1983; 黃山內等, 1983)。Asai 等人(2009) 研究報告指出生物碳的施用，水稻有較佳的產量表現。土壤有益微生物主要包括對農作物生產過程有益的細菌、放射菌、真菌及藍綠菌等，常見者有固氮菌、溶磷菌、分解菌、有機聚合物的產生菌及菌根菌等(楊, 2001; Huang, 1994; Dalmacia, 1992)，其中溶磷菌泛指能溶解土壤中不易溶解之無機或有機磷化合物的微生物；由於化學磷肥容易和土壤中鈣、鐵等陽離子形成不易溶解的磷化合物，土壤中若能添加溶磷菌，可提高有效性磷肥濃度，將有利作物吸收土壤中的磷肥(楊, 2001; Tisdale et al., 1985)。菌根菌為一種與植物根部共生的真菌，依其寄生部位之不同主要分為內生菌根菌、外生菌根菌及內外生菌根菌等，其中叢枝狀內生菌根菌(arbuscular mycorrhizal fungi)為目前微生物肥料應用最多之菌根菌(楊, 2001; Schachtman et al., 1998; Dalmacio, 1992)，菌根菌能幫助植物吸收有效性磷(Smith et al., 2003; Schachtman et al., 1998; McArthur and Knowles, 1993)，研究報告指出施用叢枝狀內生菌根菌於植株後，土壤缺乏磷肥之狀況有所改善；叢枝狀內生菌根菌與植株的共生也會增加植株對於礦物營養的吸收(Smith and Gianinazzi-Person, 1988; Kucey and Janzen, 1987; Lambert et al., 1979)。另外，利用溶磷菌配合菌根菌等雙重應用可達到更佳的效果，有實驗報告顯示文旦柚之砧木經接種菌根菌、溶磷菌等之複合微生物肥料八個月後，其株高比對照組高出 29 公分，而葉面積和葉數相對於對照組也有明顯差異(吳, 2001)。施用有機質肥料可改善土壤理化性及促進生物活性，幫助土壤密實問題獲得改善，但深耕與施用有機質肥料對於作物產量之提升均會因土壤性質及氣候條

件不同而異。土壤有機質為評估土壤健康的重要指標之一，土壤有機質可增加土壤對酸鹼的緩衝能力、促進土壤團粒化作用、增加土壤保水能力、提高土壤保肥能力及肥料有效性。因此，當土壤有機質含量低於 2% 時，土壤地力將受到影響。而有機質含量偏低可藉由土壤改良資材的使用獲得改善。由上述試驗結果顯示，不論土壤改良資材或是土壤有益微生物，對於土壤及作物生產都有正面的影響，因此本研究擬利用有機質肥料、溶磷菌、菌根菌等資材，進行番荔枝果園肥培管理試驗，探討對番荔枝果園土壤及作物品質之影響。

材料與方法

一、施用溶磷菌對作物生育影響之研究

本試驗以 6 年生臺東 2 號番荔枝為供試材料，於太麻里鄉番荔枝果園進行施用溶磷菌試驗，處理分為施用溶磷菌(於開花期及幼果期各澆溉一次)及對照組(慣行肥培管理)；施用溶磷菌之處理，試驗期間所施用之氮素及氧化鉀分別為每年每株 650 及 500 克；對照組試驗期間所施用之氮素、磷酐及氧化鉀分別為每年每株 650、400 及 500 克。於成果期採收果實，進行果實品質調查，調查項目為果寬、果長、果重及可溶性固形物等。

二、接種菌根菌對番荔枝苗木生育影響之研究

本試驗以臺東 2 號番荔枝 1 年生苗木為供試材料，於太麻里鄉復耕番荔枝果園進行接種菌根菌試驗，處理分為取 1 年生番荔枝(台東 2 號)苗木接種菌根菌處理及處理二以不接種菌根菌為對照處理，共計 2 處理。處理後苗木種植時每株施用 10 公升混合有機質肥料，化學肥料則施用台肥 1 號複合肥料。採完全逢機設計，3 重覆，每重覆 20 株，每處理 60 株，並調查植株生育情形。

三、施用有機質肥料及化學肥料對番荔枝苗木生長影響之研究

本試驗以臺東 2 號番荔枝 1 年生苗木為供試材料，於太麻里鄉復耕番荔枝果園進行肥料試驗，處理項目分為 1.混合有機質肥料施用量 10 公升/株及 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(代號 10OF+4CF)；2.混合有機質肥料施用量 10 公升/株及 20-5-10 複合肥料 3 公斤/株/年(代號 10OF+3CF)；3.混合有機質肥料施用量 10 公升

/株及 20-5-10 複合肥料 2 公斤/株/年(代號 100F+2CF)；4.混合有機質肥料施用量 20 公升/株及 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(代號 200F+4CF)；5.混合有機質肥料施用量 20 公升/株及 20-5-10 複合肥料 3 公斤/株/年(代號 200F+3CF)；6.混合有機質肥料施用量 20 公升/株及 20-5-10 複合肥料 2 公斤/株/年(代號 200F+2CF)；7. 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(代號 4CF)；8. 20-5-10 複合肥料 3 公斤/株/年(代號 3CF)；9.20-5-10 複合肥料 2 公斤/株/年 (對照組，一般推薦用量，代號 2CF) 等 9 處理。

四、土壤及植體分析

1. 土壤分析：每小區採取 2 點表土 0-20 公分之土壤，並充分混合後進行土壤分析。
 2. 植體分析：番荔枝於果園施用化學肥料之前及採收果實後，採取植體樣品進行分析，每小區採取 30 片非結果枝之第 3 或第 4 葉進行植體分析。
- 上述土壤及植體分析方法依據臺灣省農業試驗所 13 特刊進行 (張愛華，1981)。

結果與討論

一、番荔枝果園施用溶磷菌後土壤營養元素含量之變化

土壤分析結果(表 1)顯示番荔枝果園在施用溶磷菌後，對照組土壤 pH 值為 5.7、有效性磷為 387mg/kg、交換性鉀為 246 mg/kg、交換性鈣為 1,658 mg/kg、交換性鎂為 146 mg/kg；而施用溶磷菌之土壤 pH 值為 5.3、有效性磷為 496mg/kg、交換性鉀為 272 mg/kg、交換性鈣為 1,735 mg/kg、交換性鎂為 187 mg/kg，由土壤分析結果顯示施用溶磷菌後，番荔枝果園有效性磷、交換性鉀、鈣及鎂含量皆有上升的情形，顯示施用溶磷菌可提升番荔枝果園土壤營養元素含量。

二、番荔枝果園施用溶磷菌後植體營養元素含量之變化

植體葉片營養分析結果(表 2)顯示處理組葉片氮、磷、鉀、鈣、鎂含量分別為 2.89、0.16、1.76、1.94、0.30%，而對照組為 2.96、0.12、1.65、1.82、0.27%，其中施用溶磷菌的磷、鉀、鈣及鎂含量皆較對照組高，而結果與土壤分析結果可相互呼應，由於施用溶磷菌的土壤營養元素含量提升，致使植體營養元素含量較對照組高；由以上結果顯示施用溶磷菌後可提升植體營養元素含量。

三、番荔枝果園施用溶磷菌對果實品質之影響

施用溶磷菌後之番荔枝果實品質(果寬、果長、可溶性固性物及果重)調查的結果如表 3;施用溶磷菌之可溶性固形物含量及果實單粒重分別為 22.1⁰Brix 及 521.3 克,優於未施用溶磷菌之對照組,顯示施用溶磷菌對於可溶性固形物含量及果實單粒重有正面的影響。

四、番荔枝復耕果園施用化學肥料及有機質肥料及接種菌根菌後土壤營養元素含量之變化

土壤分析結果顯示(表 4)果園在未施用化學肥料及有機質肥料前,土壤 pH 值為 6.4、有機質含量為 0.3%、有效性磷為 5.3mg/kg、交換性鉀為 35.8 mg/kg、交換性鈣為 3118.5 mg/kg、交換性鎂為 142.8 mg/kg;而化學肥料及有機質肥料後,施用對照組土壤 pH 值為 6.2、有機質含量為 0.9%、有效性磷為 21.4 mg/kg、交換性鉀為 54.2 mg/kg、交換性鈣為 3026.1 mg/kg、交換性鎂為 112.4 mg/kg;而處理組土壤 pH 值為 6.0、有機質含量為 0.8%、有效性磷為 20.8 mg/kg、交換性鉀為 51.6 mg/kg、交換性鈣為 2981.4 mg/kg、交換性鎂為 127.5 mg/kg,由土壤分析結果顯示不論是否有無接種菌根菌,處理組及對照組之土壤有機質含量、有效性磷、交換性鉀含量皆有上升的情形,顯示施用化學肥料及有機質肥料可提升復耕果園土壤營養元素含量。

五、番荔枝復耕果園接種菌根菌後植體營養元素含量之變化及對植株生育之影響

試驗苗木於 2012 年 4 月初定植同時接種菌根菌,至 8 月止之生育調查顯示以接種菌根菌之植株生長速率較快,主幹直徑為 18.43mm,較對照組苗木幹徑 13.41mm 粗(圖 1),此部分與吳等人(2001) 研究報告相似;植體葉片營養分析結果(表 5)顯示處理組葉片氮、磷、鉀、鈣、鎂含量分別為 2.71、0.14、0.96、2.1、0.32%,而對照組為 2.62、0.11、0.82、1.8、0.34%,其中處理組的氮、磷、鉀及鈣含量較對照組高,此部分與 Smith 等人(1988)及 Kucey 等人(1987)研究報告相似;由以上結果顯示番荔枝苗木接種菌根菌後可促進番荔枝苗木生長。

六、有機質肥料對復耕番荔枝果園土壤之影響

土壤分析結果顯示(圖 2)，土壤有機質含量提升至 1.1~1.77%。2015 年分析結果顯示所有處理之土壤有機質含量已達 1%以上，其中以混合有機質肥料施用量 20 公升/株並施用 20-5-10 複合肥料 2 公斤/株/年(200F+2CF)處理最高(1.77%)，只有混合有機質肥料施用量 10 公升/株並施用 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(100F+4CF)處理無顯著優於只施用 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(4CF)處理者，其餘施用混合有機質肥料處理之土壤有機質含量皆顯著優於只施用化學肥料處理勢。

七、肥料對復耕番荔枝果園植株葉片營養元素含量之影響

圖 3 為植體分析結果，分析結果顯示以混合有機質肥料施用量 20 公升/株並施用 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(200F+4CF)處理最高，葉片氮、磷、鉀含量分別為 3.05、0.22、1.93%。葉片氮含量部分，除了混合有機質肥料施用量 20 公升/株及 20-5-10 複合肥料 2 公斤/株/年(200F+2CF)處理及混合有機質肥料施用量 10 公升/株及 20-5-10 複合肥料 2 公斤/株/年(100F+2CF)與 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(4CF)處理無顯著差異，其餘有施用有機質肥料之處理皆顯著優於只施用化學肥料處理。葉片磷含量部分，各處理間無顯著差異。葉片鉀含量部分，除了混合有機質肥料施用量 10 公升/株及 20-5-10 複合肥料 2 公斤/株/年(100F+2CF)與 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(4CF)處理無顯著差異，其餘有施用有機質肥料之處理皆顯著優於只施用化學肥料處理。因此在果園土壤有機質含量偏低，可配合施用有機質肥料，增進土壤保肥能力，提升肥料利用效率，增加植體營養元素含量。

八、施用有機質肥料及化學肥料後對植株產量之影響

本試驗植株苗木於 2012 年種植，2014 年第一次生產果實，表 6 為 2014 年冬期果實產量調查結果。2014 年產量調查結果顯示單株產量介於 5.8~8.1 公斤，以混合有機質肥料施用量 20 公升/株及 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(200F+4CF)處理之單株產量最高，但與 20 公升/株及 20-5-10 複合肥料 3 公斤/株/年(200F+3CF)處理及 10 公升/株及 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(100F+4CF)處理無顯著差異，而除了混合有機質肥料施用量 10 公升/株及 20-5-10 複合肥料 2 公斤/株/年(100F+2CF)處理與 20-5-10 複合肥料 4 公斤/株/年(4CF)處理無顯著差異，其餘有施

用有機質肥料之處理皆顯著優於只施用化學肥料處理；2015 年之產量調查結果與 2014 年調查結果相似，施用混合有機質肥料及化學肥料處理之夏期果產量為 5.8~6.3 公斤，而化學肥料處理為 2.9~3 公斤。由試驗結果顯示施用有機質肥料對於果實生產有正面的影響。

參考文獻

1. 王鍾和、王貴美、胡敏夫。1996。隧道式設施及施用苦土石灰和稻殼對山葵產量及品質之影響。中華農業研究 45(1)：P.57-68。
2. 吳繼光、林素禎 2001 生物肥料研發及利用 (一) 叢枝内生菌根菌 永續農業 1:93-103。
3. 連深、王鍾和。1983。長期連用矽酸爐渣對水稻收量和土壤化學性質之影響。中華農業研究 32(2)：P.185-199。
4. 黃山內、黃祥慶、王錦堂。1983。酸性稻田連用矽酸爐渣之效果及其殘效之研究。臺中區農業改良場研究彙報 07:53-65。
5. 張愛華。1981。本省現行土壤測定方法。臺灣省農業試業所特刊 13 號:9-26。
6. 楊秋忠 2001 生物肥料研發及利用 (一) 永續農業 1:80-92。
7. 蔡宜峰、陳俊位、賴文龍。2008。有機肥料及苦土石灰應用在洋桔梗栽培之效應。行政院農委會臺中區農業改良場研究彙報 98：P.9-20。
8. Asai, H., B. K. Samson, H. M. Stephan, K. Songyikhangsuthor, K. Homma, Y. Kiyono, Y. Inoue, T. Shiraiwa, and T. Horie, 2009. Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. Field crops research. 111:81-84.
9. Bi, L., B. Zhang, G.. Liu, Z. Li, Y. Liu, C. Ye, X. Yu, T. Lai, J. Zhang, J. Yin, and Y. Liang, 2009. Long-term effects of organic amendments on the rice yields for rice cropping systems in subtropical China. Agriculture, Ecosystems and Environment. 129:534-541.
10. Binder, D.L., A. Dobermann, D.H. Sander, and K.G. Cassman.2002. Biosolids as nitrogen source for irrigated maize and rainfed sorghum. Soil Sci. Soc. Am. J. 66:531-543.
11. Dalmacio, I.F., 1992, Biotechnology for sustainable agriculture. Food & Fertilizer Technology Center, Technical Bulletin, p83-88
12. Huang, S.N., 1994, Soil management for sustainable food production in Taiwan. Food & Fertilizer Technology Center, Technical Bulletin, p1-12
13. Inanaga S, Y. Higuchi, N. Chishalci. 2002. Effect of silicon application on reproductive growth of riceplant. Soil Sci Plant Nutr. 48(3): 341-345.
14. Kaye, N.M., Mason, S.C., Jackson, D.S. and Galusha, T.D. 2007, Crop rotation and soil amendment alters sorghum grain quality. Crop sci, 47:722-729
15. Knudsen, D., G. A. Peterson, and P. F. Pratt, 1982. Potassium. In” Methods of soil analysis. Part2 ”ed A. L. Page, 403-430. Academic Press, Inc.,New York.
16. Kucey, R.M.N., and Janzen, H.H., 1987, Effects of VAM and reduced nutrient availability on growth and phosphorus and micronutrient uptake of wheat and field beans under greenhouse conditions. Plant Soil 104:71-78

17. Lambert D.H., Baker, D.E., Cole, H., 1979, The role of mycorrhizae in the interaction of phosphorus with zinc, copper, and other elements. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43:976-980
18. Lehmann, J., J. Pereira da Silva Jr., C. Steiner, T. Nehls, W. Zech, and B. Glaser, 2003. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. *Plant Soil.* 249:343–357.
19. Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plant. San Diego: Academic. Press Inc 289~306:417~427.
20. Novak, J. M., W. J. Busscher, D. L. Laird, M. Ahmehna, D. W. Warrs, and M. A. S. Niandou, 2009. Impact of biochar amendment on fertility of a southeastern coastal plain soil. *Soil Science.* 174(2):105-112.
21. Olsen, S. R. and L. E. Sommers, 1982. Phosphorus. In” *Methods of soil analysis. Part 2* ”ed A. L. Page, 403-430. Academic Press, Inc., New York.
22. Rondon, M., J. A. Ramirez, and J. Lehmann, 2005. Charcoal additions reduce net emissions of greenhouse gases to the atmosphere. In” *Proceedings of the 3rd USDA Symposium on Greenhouse Gases and Carbon Sequestration*”, 208, Baltimore, USA.
23. Schachtman, D.P., Reid, R.J., and Ayling, S.M., 1998, Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.* 116:447-453
24. Smith, S.E. and Gianinazzi-Person, V., 1988, Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol* 39:221-244
25. Smith, S.E., Smith, F.A., and Jakobsen, I., 2003, Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiol.* 133:16-20
26. Winslow M D, K. Okada, F. Correa-Victoria. 1997. Silicon deficiency and the adaptation of tropical rice ecotypes. *Plant and Soil.* 188(2): 239-248.
27. Yaduvanshi, N. P. S. and D. R. Sharma, 2008. Tillage and residual organic manure amendment on soil organic matter and yield of wheat under sodic water irrigation. *Soil and Tillage Research.* 98:11-16.
28. Yamato, M., Y. Okimori, I. F. Wibowo, S. Anshiori, and M. Ogawa, 2006. Effects of the application of charred bark of *Acacia mangium* on the yield of maize, cowpea and peanut, and soil chemical properties in South Sumatra, Indonesia. *Soil Science and Plant Nutrition.* 52:489–495.
29. Yanai, Y., K. Toyota, and M. Okazani, 2007. Effects of charcoal addition on N₂O emissions from soil resulting from rewetting air-dried soil in short-term laboratory experiments. *Soil Science and Plant Nutrition.* 53:181–188.
30. Yoshida.S. 1981. “Fundamentals of rice crop science” .International Rice Research Institute. Los Baiios, Laguna,Philippines.
31. Zhlijazkov, V. D. 2005. Assessment of wool waste and hair waste as soil amendment and nutrient source. *Journal of Environment. Quality.* 34:2310-2317.

表 1、番荔枝果園施用溶磷菌後土壤營養元素含量之變化

Treatment	pH	Bray No. 1 P	Exchangeable		
			K	Ca	Mg
(mg/kg)					
PSB	5.3	496	272	1735	187
Control	5.7	387	246	1658	146

表 2、番荔枝果園施用溶磷菌後土壤營養元素含量之變化

Treatment	N	P	K	Ca	Mg
	------(%)-----				
PSB	2.89	0.16	1.76	1.94	0.30
Control	2.96	0.12	1.65	1.82	0.27

表 3、番荔枝果園施用溶磷菌後土壤營養元素含量之變化

Treatment	Fruit Width (cm)	Fruit Length (cm)	Total Soluble Solid Content (^o Brix)	Fruit weight (g)
PSB	11.4	10.7	22.1	521.3
Control	11.2	10.7	20.2	511.8

表 4、番荔枝復耕果園施用化學肥料及有機質肥料及接種菌根菌後土壤營養元素含量之變化

Treatment	pH	O.M	Bray No. 1 P	Exchangeable		
				K	Ca	Mg
(mg/kg)						
AMF	6.0	0.8	20.8	51.6	2981.4	127.5
Control	6.2	0.9	21.4	54.2	3026.1	112.4

表 5、番荔枝復耕果園施用化學肥料及有機質肥料及接種菌根菌後植體營養元素含量之變化

Treatment	N	P	K	Ca	Mg
	------(%)-----				
AMF	2.71	0.14	0.96	2.1	0.32
Control	2.62	0.11	0.82	1.8	0.34

表 6. 2014 年冬期果番荔枝復耕果園肥料處理後之植株產量調查

Treatment	100F +4CF	100F +3CF	100F +2CF	200F +4CF	200F +3CF	200F +2CF	4CF	3CF	2CF
Yield (kg/plant)	7.7	7.3	6.9	8.1	7.6	7.5	6.6	6.3	5.8

表 7. 2015 年夏期果番荔枝復耕果園肥料處理後之植株產量調查

Treatment	100F +4CF	100F +3CF	100F +2CF	200F +4CF	200F +3CF	200F +2CF	4CF	3CF	2CF
Yield (kg/plant)	6.1	6	5.8	6.3	6.1	5.9	3	2.9	2.9

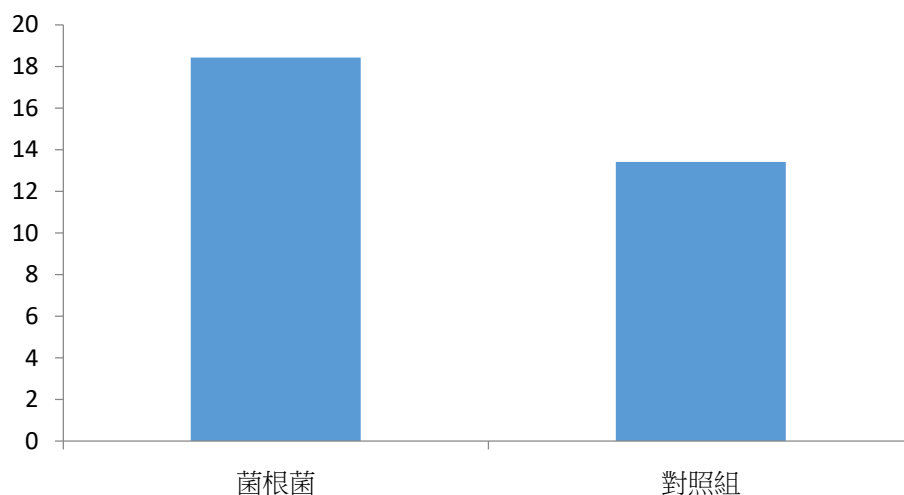


圖 1. 番荔枝復耕果園苗木接種菌根菌之生育調查

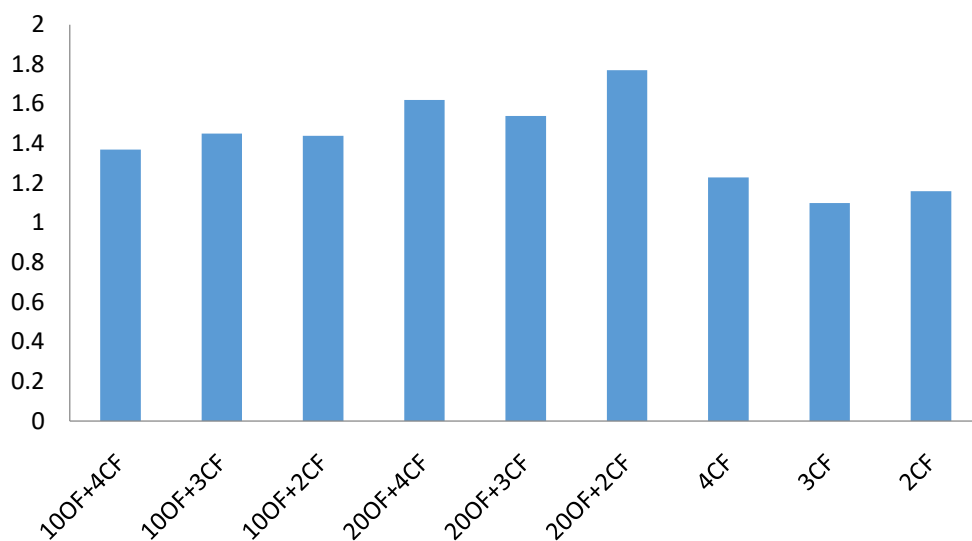


圖 2. 施用有機質肥料及化學肥料後對復耕番荔枝果園土壤有機質含量之變化

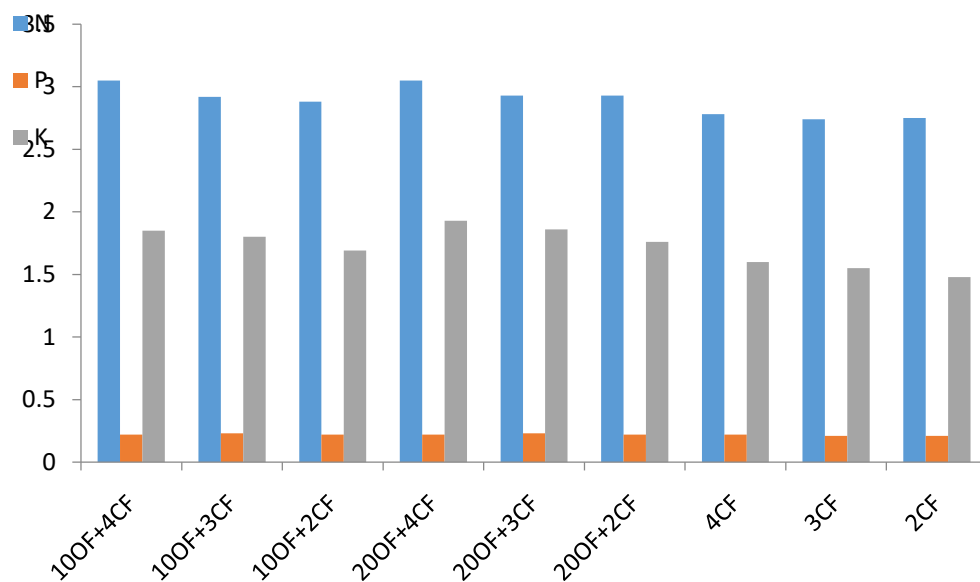


圖 3. 施用有機質肥料及化學肥料後對復耕番荔枝果園葉片營養含量之變化

穩定同位素在農業研究之應用

劉滄琴

行政院農業委員會農業試驗所農業化學組

tsliu@tari.gov.tw

摘要

近 30 年由於相關測定穩定同位素組成的儀器，如氣相同位素比值質譜儀或同位素光譜儀，不僅在分析精確性的提高，同時普及於各國之實驗室，使得穩定同位素的技術成為農業及環境相關領域研究的有力工具之一。穩定同位素的研究主要是建立在因同位素分化作用所造成的同位素比值差異，在了解造成此差異之原因後，進而協助我們研究農業環境之課題。本文並扼述農委會農業試驗所自 2006 年購置「同位素比值型質譜儀」以來的研究成果，如在區分農產品產地來源、建立有機施作蔬菜鑑別技術、檢驗海洋深層水瓶裝水之水源、確認溪流生態營養階層等，都已獲得階段性成果。

關鍵詞：穩定同位素、同位素分化作用、同位素比值質譜儀，同位素光譜儀

前言

氫、氧、碳、氮和硫等穩定同位素普遍存在於大氣圈、水圈、岩石圈及生物圈中，它們在自然界中的含量豐富，且屬質量較輕的元素。所謂同位素為元素之質子數相同，但因具不同之中子數導致質量數不同，如表 1 中之 ^{16}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 。一般而言，質量較輕的同位素含量較豐(如表 1 中之 ^{12}C 、 ^{14}N 、 ^{16}O 、 ^{32}S 和 ^1H)；相較而言，質量較重的同位素(如表 1 中之 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{34}S 和 ^2H) 含量較低。近 30 年以來，由於相關測定穩定同位素比值 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 、 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ 和 $^2\text{H}/^1\text{H}$) 的儀器，如氣相同位素比值質譜儀或同位素光譜儀，不僅在分析精確性的提高，同時逐漸普及於各國之實驗室，使得穩定同位素的技術成為各地球環境相關領域研究的有力工具之一。

穩定同位素分析

上述氫、氧、碳、氮和硫等穩定同位素的研究主要探討反應物與產物間相關同位素的比值($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 、 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ 和 $^2\text{H}/^1\text{H}$) 變化的比較；此反應物與產物間的同位素比值差異乃由同位素分化作用造成。依國際規則及可跨實驗室比較，同位素的比值以 δ 表之(如 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 、 $\delta^{34}\text{S}$ 和 $\delta^2\text{H}$)，其定義為：

$$\delta(\text{‰}) = (R_{\text{Sample}} / R_{\text{Reference}} - 1) \times 1000 \dots\dots\dots (1)$$

表 1：氫、氧、碳、氮、硫等穩定同位素之同位素含量、同位素之比值、待測氣體、參考標準及參考標準之同位素比值的綜合整理(彭宗仁等，2006)

元素	同位素豐度 (%)	待測氣體	同位素比值	國際參考標準品	參考標準品比值
H	¹ H: 99.985 ² H: 0.015	H ₂	² H/ ¹ H	VSMOW	1.5575×10 ⁻⁴
O	¹⁶ O: 99.795 ¹⁷ O: 0.037 ¹⁸ O: 0.204	CO ₂	¹⁸ O/ ¹⁶ O	VSMOW	2.0052×10 ⁻³
C	¹² C: 98.89 ¹³ C: 1.11	CO ₂	¹³ C/ ¹² C	VPDB	1.1237×10 ⁻²
N	¹⁴ N: 99.633 ¹⁵ N: 0.366	N ₂	¹⁵ N/ ¹⁴ N	AIR-N ₂	3.677×10 ⁻³
S	³² S: 95.00 ³³ S: 0.76 ³⁴ S: 4.22 ³⁶ S: 0.014	SO ₂ 、SF ₆	³⁴ S/ ³² S	CDT	4.5005×10 ⁻²

(1) 式中 R 為 ²H/¹H、¹⁸O/¹⁶O、¹³C/¹²C、¹⁵N/¹⁴N 或 ³⁴S/³²S， R_{Sample} 為樣品之同位素比值， $R_{Reference}$ 為國際共同標準品的同位素比值 (表 1)。因為同位素分化作用 (fractionation) 造成同位素含量之變化是微量的，因此以千分比 (%) 為單位。

同位素比值的測定早先是以「同位素比值型質譜儀」(isotope ratio mass spectrometer) 為之。因質譜儀精密，其測定及維護需花費較大之精神及經費，才能維持分析水準。有別於質譜分析，近年有以光譜分析技術的「同位素分析儀」商品化，使同位素分析較質譜分析更為快速、簡便，維護更為容易。但「氣相同位素比值型質譜儀」與「同位素分析儀」在分析及維護上互有長、短之處，端看使用者之需求。

同位素分化作用

穩定同位素的技術在各相關領域研究的基礎在於同位素分化作用 (isotope fractionation)。扼要而言，同位素分化作用是指同種元素雖進行相同的化學反應，但是輕、重同位素間因質量、鍵結能的差異，會導致在不同條件下(如溫度)，各同位素間的反應速率不同，進而造成輕、重同位素以不同的比例分配在產物及反應物中。因此，我們可藉由相關元素之同位素組成的變化，探討相關自然環境變遷的訊息及意義。

以光合作用為例，C₄ 植物之 CO₂ 固定效率較 C₃ 植物為高，以避免長時間打開氣孔，導致水分通過蒸散作用過快的流失。因 C₄ 與 C₃ 植物之固碳途徑不同，故有不同的碳同位素分化作用；相對而言，C₄ 型植物具相對較多之 ¹³C 之同位素，其 ¹³C/¹²C 比值 ($\delta^{13}C$) 也較高(Lajtha and Marshall, 1994; O'Brien, 2015)。因此，¹³C/¹²C 比值記錄著植物生長環境(CO₂ 含量、水分境況) 的條件。

續以脫氮作用為例。高硝酸根(NO₃⁻)濃度的地下水處在無氧環境中，如果再無 NO₃⁻進入補充的話，地下水就有機會因脫氮作用而減緩其污染程度。地下水經歷顯著之脫氮作用後不僅其 NO₃⁻濃度會較初始濃度為低，同時其 ¹⁵N/¹⁴N 比值($\delta^{15}N$)較初始比值為高 (Kendall, 1998)。在微生物參與的脫氮作用過程中，要打斷與重

的同位素原子間之鍵結 (如 $^{15}\text{N}-^{15}\text{N}$) 要較與輕的同位素原子 (如 $^{14}\text{N}-^{14}\text{N}$) 需要較多的能量。因此，當微生物將 NO_3^- 中的 N 轉化成 N_2 時，會生成含較輕同位素 (^{14}N) 較多的氮氣，而殘餘的 NO_3^- 則會較富集 ^{15}N ；是故，反應物 (NO_3^-) 之 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 比值較產物 (N_2) 之比值為高。在一連續之脫氮作用之後，較後階段地下水之 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 比值 ($\delta^{15}\text{N}$) 會較前階段為高。因此，可藉比較各時間階段地下水之 $\delta^{15}\text{N}$ 值與初始值以評估地下水經歷脫氮作用的程度。

再者以水 (H_2O) 之蒸發及凝結作用為例。一般而言，水之氫與氧原子具同步趨勢之同位素分化作用。陸域之非深地層水體均由大氣降水而來，而降水之氣團源自海水蒸發之水氣 (圖 1)。海水之 $\delta^2\text{H}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 均在 0 ‰ 左右，在蒸發作用過程， ^{16}O (或 ^1H) 或較 ^{18}O (或 ^2H) 容易進入汽相，造成蒸發之水氣會相對海水富集 ^{16}O 及 ^1H 同位素，故水氣之 $\delta^2\text{H}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 值會小於 0 ‰。假設水氣之 $\delta^{18}\text{O}$ 值為 -13‰，此水氣先在海岸地區凝結降水，其值約 -3‰，在凝結作用過程，氣團中之 ^{18}O (或 ^2H) 會較 ^{16}O (或 ^1H) 容易在降水內；此舉會造成降水後之氣團內之 ^{18}O (或 ^2H) 相對含量較初始氣團為少 ($\delta^{18}\text{O}$ 值變小，如圖 1 之 -15 或 -17‰)。因此，越後階段氣團內之 $\delta^{18}\text{O}$ 值會越低於初始之 -13‰；也就造成越後階段之降水之 $\delta^{18}\text{O}$ 值也越小 (如圖 1 之 -5‰)。是故會有內陸水體之 $\delta^{18}\text{O}$ 值會較海岸地區之值為低的地理差異。因此，不同環境或地區的水體其 $\delta^2\text{H}$ 或 $\delta^{18}\text{O}$ 特徵值可能相異；此水體之 $\delta^2\text{H}$ 或 $\delta^{18}\text{O}$ 地理差異亦會反應在植體上，造成不同地理區之農作物會有相異之 $\delta^2\text{H}$ 或 $\delta^{18}\text{O}$ 值。此為以氫氧同位素作為鑑別相關農產品產地來源之原理依據。

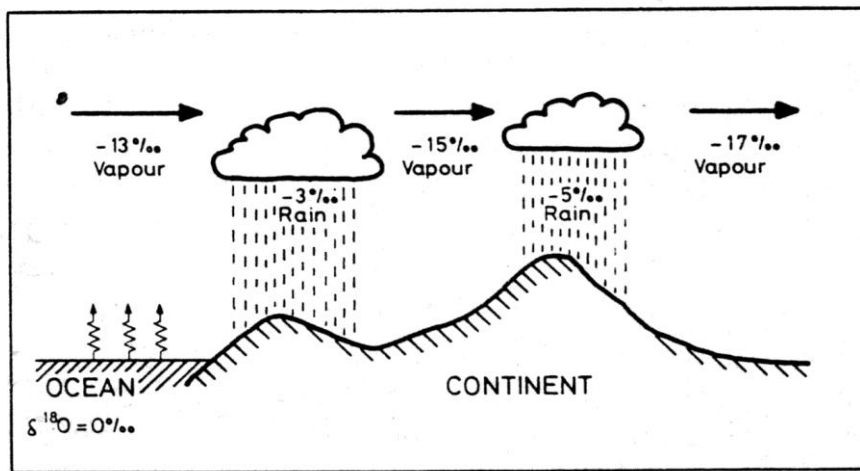


圖 1 水分子自海水蒸發到冷凝降水期間之同位素分化示意圖 (Hoefs, 1987)

現階段研究成果

農委會農業試驗所自 2006 年購置「同位素比值型質譜儀」以來，除單位本身之研究任務外，也與各相關學術單位合作，以穩同位素技術進行相關課題研究。以下扼述近 10 年以來之部分成果。

(一) 有機栽培蔬菜之鑑別試驗研究

不同來源的氮會有不同的 $\delta^{15}\text{N}$ 值。因為化學肥料的製造以大氣中之氮作為原料 (哈柏法)，所以化學肥料的 $\delta^{15}\text{N}$ 值與大氣相似，約為 0 ‰。動物排泄物之 $\delta^{15}\text{N}$ 值會明顯較大，這是因為新鮮的動物排泄物中之 $^{14}\text{NH}_3$ 較 $^{15}\text{NH}_3$ 容易揮發，導致動

物排泄物表現出較大的 $\delta^{15}\text{N}$ 值，約 10~25 ‰。基於化肥與動物排泄物 (有機肥) 之 $\delta^{15}\text{N}$ 值有明顯差距，如果施用化學肥料者，其植體中之 $\delta^{15}\text{N}$ 值應會與施用有機肥之值有所區別。

由表 2 之結果顯示(劉滄琴等，2009)，如果在產地上能同時分析植體及所施用之有機肥之 $\delta^{15}\text{N}$ 值，且植體之 $\delta^{15}\text{N}$ 值大於有機肥之 $\delta^{15}\text{N}$ 值的情況，初步可認為此蔬菜是有機蔬菜。相反地，如果全程施用化肥，則蔬菜植體之 $\delta^{15}\text{N}$ 值會在 0‰ 左右。

表 2 栽培材料及不同處理青江菜之 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 分析值 (劉滄琴等，2009)

材料/處理	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
材料		
種子	2.35	-28.76
栽培介質	3.49	-27.33
有機肥	17.64	-24.51
化肥	-0.30	-36.11
各處理		
對照	9.56	-32.59
	5.46	-32.93
	4.62	-32.62
平均值	6.55	-32.71
施有機肥	19.06	-30.53
	18.92	-31.44
	21.19	-31.76
平均值	19.72	-31.24
施化肥	0.99	-30.60
	-0.11	-33.00
	1.55	-31.53
平均值	0.81	-31.71
施有機及化肥	7.12	-32.51
	15.71	-32.28
	15.54	-32.29
平均值	12.78	-32.29

(二) 市售瓶裝海洋深層水之水源鑑別

誤貼標籤和攙雜假貨的問題一直都存在，它不僅威脅誠實商人的生計，同時也影響消費者的權利。市售瓶裝飲用水依其水源可分成陸域淡水來源及海域海水來源兩類。以海水做為水源之瓶裝水是將海水透過適當之海水淡化處理後製備而成；以陸域淡水為水源之瓶裝飲用水，依其水源或處理方式之不同，常被標示為純水、天然水、礦泉水、礦質水、湧泉水或竹炭水等展售。以台灣市場瓶裝飲用水之單價而言，使用海水做為水源之瓶裝水(包括國內及進口之海洋深層水商品)約每公升新台幣 30 至 170 元。另一方面，以陸域淡水為水源之市售瓶裝飲用水，其價格約為每公升 18 至 35 元。相較而言，亦可做為飲用水的自來水其每公升僅約 0.01 元。因此，市售瓶裝水之單價遠高於自來水。本研究目的在鑑別是否有以陸域水體混充為海洋深層水之瓶裝水展售的情況。

由圖 2 之結果顯示，除有一商品(DSDW-B)之 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 特徵值與陸域水體相同外，其餘海洋深層水商品之 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 值與海水之特徵值相近 (Peng et al., 2015)。DSDW-B 之海洋深層水標示應該是錯誤的。

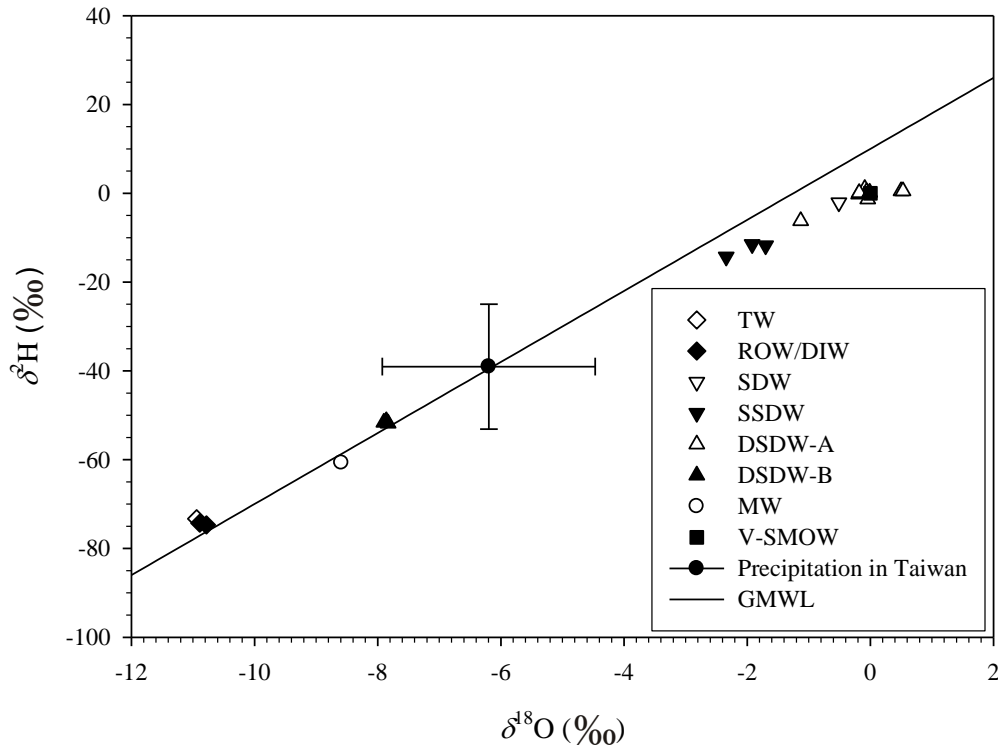


圖 2 各相關水體 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 之關係圖(Peng et al., 2015)。圖上顯示 DSDW-B 海洋深層水商品之 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 特徵值與陸域水體相同，但海水源水體有極大之差異。

(三) 大蒜產地之鑑別研究

由於地理位置、氣候條件及土壤母質不同，造成不同產地植體之同位素組成及微量元素特徵互有差異。本研究分析大蒜標本之 $\delta^2\text{H}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 值及銣、鋇等 25 種微量元素濃度，配合主成份分析進行產地區分。試驗標本包括來自阿根廷、中國、越南、韓國及台灣。

由圖 3 之結果顯示， $\delta^2\text{H}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 值能清楚區分出阿根廷(南美洲)及亞洲各國標本，但不能清楚區分亞洲內之各國標本。進一步以 PCA 分析，結果顯示(圖 4)，台灣標本與中國、越南、韓國皆能清楚區分；越南標本可與韓國標本區分，韓國標本可與中國標本區分，但少數越南標本落於中國福建標本群組內(林振男等，2016)。

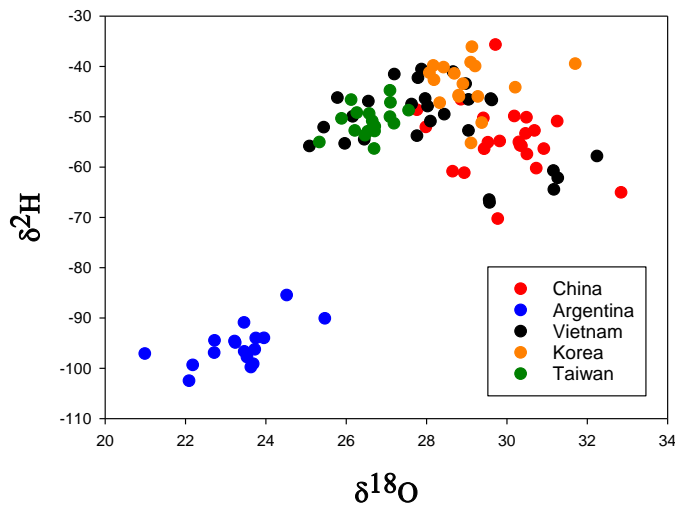


圖 3 由 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 之比較，可清楚區分阿根廷(南美洲)及亞洲各國之大蒜標本

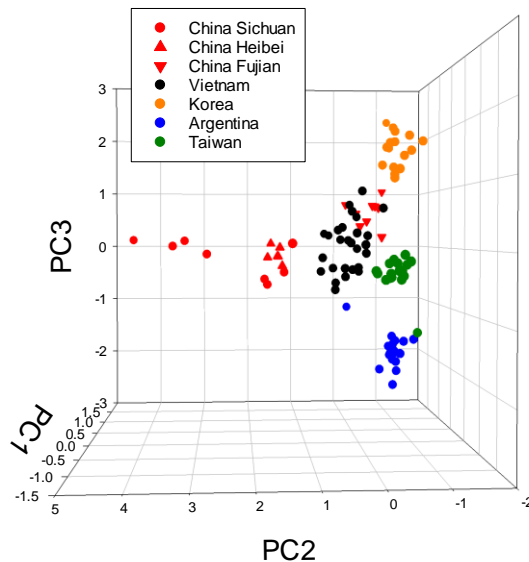


圖 4 以 PCA 分析能清楚區分台灣與中國、越南、韓國大蒜之差異

(四) 溪流生態食物網之確認

利用穩定碳、氮同位素研究食物網的原理主要是建構在食物營養的關聯性；也就是消費者體內之碳、氮之同位素組成會與其所覓取食物源之同位素組成相似。然而因代謝作用，造成消費者體內之 ^{13}C 和 ^{15}N 的同位素含量會比其食物內相對較多。也就是說，較高營養階生物體內 ^{13}C 和 ^{15}N 的同位素含量相對會比低營養階生物體內為多，而造成具較重之 $\delta^{13}\text{C}$ 與 $\delta^{15}\text{N}$ 值 (Rossmann, 2001)。一般而言，碳穩定同位素常用於食物來源之追蹤，而氮穩定同位素則常用於營養階層的建立 (Fry, 1999)。

七家灣溪位於雪霸國家公園境內的大甲溪上游支流，是珍貴稀有保育動物台灣櫻花鉤吻鮭目前僅存的主要棲地；因此，七家灣溪生態保育功能極受各界重視。本研究之目的即透過碳、氮同位素技術，配合已有之研究資訊，了解七家灣溪之

食物網特徵，進而了解台灣櫻花鉤吻鮭各營養來源之相對重要性。

由 $\delta^{13}\text{C}$ 及 $\delta^{15}\text{N}$ 特徵值顯示(圖 5)， C_3 型濱岸植物是七家灣溪最重要的基礎營養來源。由 IsoSource 軟體分析七家灣溪各營養階主要食物來源之結果顯示，在營養關聯由基礎生產者至消費者依序為： C_3 型濱岸植物、濾食性水棲昆蟲、掠食性水棲昆蟲、台灣櫻花鉤吻鮭 (陳良偉等，2011)。

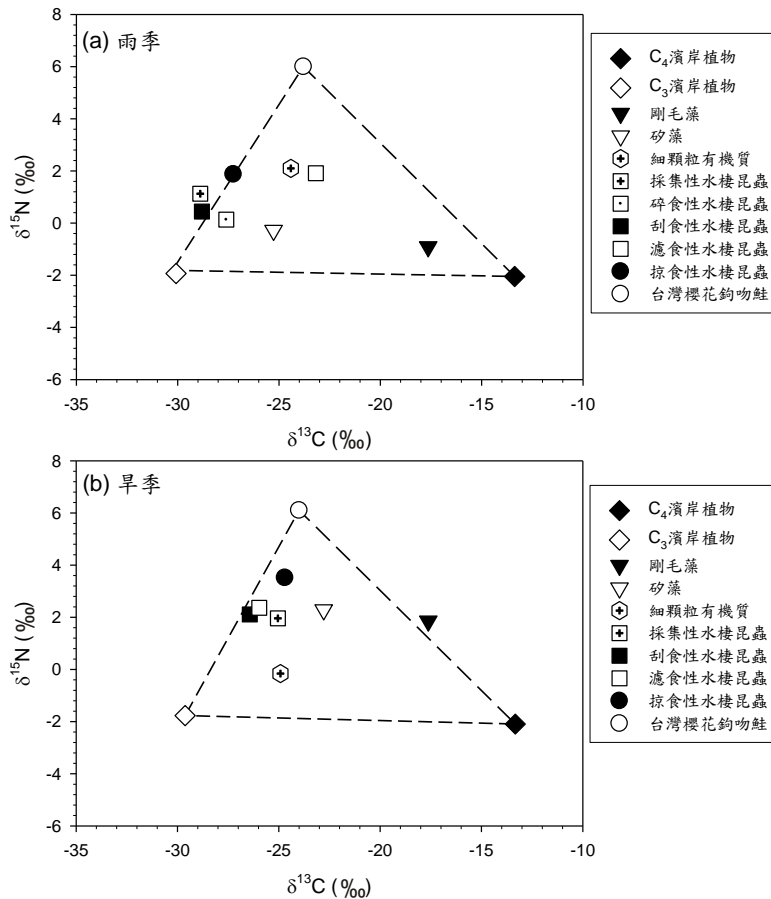


圖 5 七家灣溪各主要食物源及消費者之 $\delta^{13}\text{C}$ 及 $\delta^{15}\text{N}$ 值比較圖 (陳良偉等，2011)

參考文獻

- 林振男、劉滄琴、梁文睿、施旻劭、彭宗仁。2016。以微量元素及氫、氧同位素區分大蒜之產地來源。臺灣公定分析化學家協會(AOAC)第八屆第二次會員大會暨學術研討會壁報論文摘要。
- 陳良偉、林幸助、彭宗仁、郭美華、蔡尚惠。2011。以穩定同位素探討台灣櫻花鉤吻鮭之營養來源及其食物網。農林學報。60(2): 93-107。
- 彭宗仁、劉滄琴、林幸助。2006。穩定同位素在農業及生態環境研究上之應用。台灣農業研究。55(2): 79-90。
- 劉滄琴、彭宗仁、吳昇鴻、范家華、林毓雯。2009。分析植體氮同位素組成鑑別有機蔬菜之初步評估。台灣農業研究，58(3): 169-175。
- Fry, B. 1999. Using stable isotope to monitor watershed influences on aquatic trophodynamics. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 56:2167 – 2171.

- Hoefs, J. 1987. *Stable Isotope Geochemistry*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Kendall, C. (1998). Tracing nitrogen sources and cycling in catchments. In C. Kendall and J. J. McDonnell, editors, *Isotope tracers in catchment hydrology*. Elsevier, Amsterdam. p. 519-576
- Lajtha, K., and J.D. Marshall. 1994. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In Lajtha K. and R. H. Michener, editors, *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific Publications, London. p. 1-21.
- O'Brien, D. M. 2015. Stable isotope ratios as biomarkers of diet for health research. *Annu. Rev. Nutr.* 35:565-94.
- Peng, T. R., W. J. Liang, T. S. Liu, Y. W. Lin, and W. J. Zhan. 2015. Assessing the authenticity of commercial deep-sea drinking water by chemical and isotopic approaches. *Isot. Environ. Health Stud.* 51: 322-331.
- Rossmann, A. 2001. Determination of stable isotope ratios in food analysis. *Food Rev. Int.* 17(3): 347-381.

大豆和小麥的鎘毒性與吸收受鈣、鉀影響之差異性比較

王品傑、楊慶明、何佩綺、莊愷瑋*

國立嘉義大學農藝學系

* E-mail: kwjuang@mail.ncyu.edu.tw

摘要

本研究目的在探討土壤溶液相之鈣、鉀離子濃度，對大豆(*Glycinemax* L.)和小麥(*Triticumaestivum* L.)幼苗鎘毒性與吸收之影響，並比較兩種植物在不同鈣、鉀背景濃度下對減緩鎘毒性反應及降低鎘吸收量之差異。本研究以大豆和小麥幼苗於水耕培養方式下進行鎘毒性與吸收之模擬試驗，分別於鈣離子 0.5、1 和 10 mM 及鉀離子 0.3、1.2 和 9.6 mM 等不同濃度背景條件下，進行鎘暴露試驗維期七天。結果顯示，大豆幼苗根伸長量隨鎘暴露濃度升高而顯著減少，但根伸長量減少的情形明顯因提高鈣、鉀背景濃度而有減緩的趨勢，顯示溶液相鈣、鉀離子與大豆幼苗根部鎘毒性作用有關，而且提升鈣離子濃度不但減緩根部鎘毒性反應也同時降低根部對鎘的吸收，但提升鉀離子濃度減緩大豆根部鎘毒性反應卻未顯著影響根部對鎘的吸收。相較於大豆，小麥幼苗根部對升高鎘暴露濃度表現較強的耐受性，而且提升鉀離子濃度對減緩小麥幼苗根部伸長量減少的作用優於提升鈣離子濃度，由於提升鉀離子濃度亦可顯著促進根伸長量，故提升鉀離子濃度可能並非直接減緩鎘毒性作用；無論如何，提升鈣離子濃度仍有減緩小麥幼苗根部鎘毒性之作用。從兩種作物對鈣和鉀的需求差異而言，大豆和小麥幼苗根部對鎘的吸收皆因提升鈣離子濃度而顯著降低，但僅小麥根部鎘吸收量因提升鉀離子濃度而下降。

關鍵詞：重金屬、陽離子競爭、植物有效性、植物毒性、水耕試驗

前言

重金屬於土壤環境中的有效性(availability)是影響生物毒性(toxicity)與吸收(absorption)最直接的因素，而且許多學者認為 pH 值、陽離子交換容量(CEC)和有機質等土壤性質主導重金屬的生物有效性 (Nolan et al., 2003; Li et al., 2004; Zhao et al., 2006; Luo et al., 2008)。因此，僅以土壤重金屬的總濃度常無法準確預測重金屬的生物有效性，必須考慮土壤基本性質的影響，再對預測模式予以適當修正 (McBride, 2001; Janssen et al., 2003)。早期的研究(Campbell, 1995; Sauvé et al., 1996)認為，相較於土壤中重金屬的總濃度，溶液相的自由金屬離子活性是預測重金屬有效性與毒性的較佳指標，且於重金屬離子在土壤固液相間分配平衡的條件下，發展成所謂的自由離子活性模型(freeion activity model; FIAM) (Parker and Pedler, 1997; Brown and Markich, 2000)，並持續被應用於模擬水體-底泥系統的重金屬生物有效性和毒性(Peijnenburg and Vijver, 2007; Vink, 2009)。然而，也有許多研究更深入發現，在自然水體或土壤溶液，重金屬的毒性作用不僅取決於自由離子的活性，也受溶液中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 和 H^+ 等其它大量元素(macro element)陽離子的影響(Parker et al., 1998; Pedler et al., 2004)。Kinraide (1998)提出三種可能的機制，藉以說明提升鈣和鎂離子濃度對降低銅、鋅和鋁毒性反應的影響，而且影響金屬毒性的關鍵指向原生質膜表面靜電荷的改變，因此降低膜表面對重金屬離子的吸附作用(Antunes and Hale, 2006; Wang et al., 2008)，並阻礙重金屬離子在膜表面轉運位置的接合反應(Niyogi and Wood, 2004; Wang et al., 2009)。不論從原生質膜表面的靜電吸附作用，或轉運位置的接合反應，以陽離子的競爭行為說明大量元素對減緩重金屬的生物毒性作用，乃是可被接受的概念(Lock et al., 2007)。

目前，農業和工業活動及廢棄物棄置等行為已造成土壤鎘累積濃度不斷上升，如此也使地上生產之作物可食部位顯著累積相當量的鎘(Arao et al., 2003)，雖不會造成作物的嚴重毒害和減產，但卻可造成人類對鎘攝食量上升的高度風險(Wagner, 1993)，因此植物對鎘的毒性反應與吸收累積仍是評估土壤鎘經食物鏈進入人體的重要依據，尤其是針對大宗糧食作物的影響。

土壤鎘對植物生長的毒性作用以造成植體內氧化逆境、擾亂光合作用效率和抑制礦質養分吸收等途徑，尤其植體內鈣、鉀的轉移和分配會因植株對鎘逆境的生理調節作用而劇烈改變(Liu et al., 2012; Nazar et al., 2012)。鈣營養的植物生理功能包括：訊號傳遞、細胞分裂與伸長、細胞膜的通透性和滲透勢能的調節(Marschner, 1995; Kiegle et al., 2000)；而鉀營養的植生功能包括：酵素活性、能量傳遞、代謝物傳輸、滲透勢能的調節與水分吸收(Marschner, 1995; Szczerba et al., 2009)。也因此，已有不少研究針對鈣、鉀功能與鎘毒性的拮抗作用進行討論，有針對鈣和鉀對不同植物鎘毒性和吸收的差異研究(Suzuki, 2005; Ismail, 2008; Ho et al., 2012; Zorrig et al., 2012)，也有一些研究提出可能的假說和概念機制說明其關聯(Kinraide, 1998; Yang et al., 2013; Liu et al., 2014)。更有學者認為提供鈣和鉀外源添加，是彌補因鎘毒性而降低鈣、鉀吸收的可行作法(Shamsi et al., 2010; Farzadfar et al., 2013)。不同植物種類對鈣和鉀的需求和選擇會有顯著的差異性(Bergmann, 1993)，一般而言，雙子葉植物比單子葉植物對鈣有較高的需求(Juknevičius and Sabienė, 2007)，而單子葉植物的根系形態是促成其對鉀吸收有較高有效性之重要因素(Øgaard and Hansen, 2010)，因此不同植物的鎘毒性與吸收受鈣、鉀影響的程度可能差異甚大；雖然已有分別比較不同單子葉植物和雙子葉植物對鎘毒性與吸收的差異性研究(Arao et al., 2003; Stolt et al., 2006; Sugiyama et al., 2011)，但仍鮮少研究考慮植物種

類差異探討鈣、鉀功能與鎘毒性之拮抗關係。

本研究目的在探討比較大豆和小麥苗於不同鈣、鉀背景濃度下受鎘逆境處理之生長反應與吸收差異(Yang and Juang, 2015)，並提出說明提升鈣、鉀背景濃度對減緩鎘植物毒性與吸收之概念模式。

材料與方法

一、水耕試驗

本研究以綠肥用青皮大豆(*Glycine max* (L.) Merr.cv. Tainan No. 4)和小麥(*Triticumaestivum* L. cv. Taichung select No. 2)為鎘毒性試驗之模式植物，種子於室溫下浸種 36 h，接著置於 10 % Hoagland 修改溶液[0.5mMKCl、0.5 mM Ca(NO₃)₂、0.1 mM KH₂PO₄、0.2 mM MgSO₄、0.25 mM NH₄NO₃、10 μM Fe-EDTA、11.5 μM H₃BO₃、22.5 μM MnSO₄、119 nM ZnSO₄、80 nM CuSO₄ 及 27.7 μM (NH₄)₆ Mo₇O₂₄]中預先培養兩天，以供水耕試驗之用。

本研究設定之水耕試驗以 10% Hoagland 溶液為背景，再將該背景溶液分別以氯化鉀(KCl)調整為含鉀濃度 0.3、1.2 和 9.6mM，及以氯化鈣(CaCl₂)調整成含鈣濃度 0.5、1.0 和 10 mM 等六種供試養液。接著再分別對各供試養液，以氯化鎘(CdCl₂)分別配製成 4、8、12 和 16μM 鎘濃度的處理養液，並設置不添加鎘處理之控制組，各處理和控制組養液皆以 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid 緩衝溶液控制 pH 6.0-6.5。

取處理養液 40 mL 置入體積 50mL 的塑膠瓶中，各三重複，每瓶定植一株幼苗。於生長箱中連續培育 7 d，並維持溫度 25±5°C，相對濕度 75%，每日光照 12 h，光照通量 150μmol m⁻² s⁻¹，生育期間每天以蒸餾水補充養液蒸散之水分，幼苗經鎘曝露培育 7 d 後採收，分別量測株高和根長。植體以 65°C 烘乾 72 h，將烘乾植體稱重，再以濃硝酸/過氯酸(HNO₃ / HClO₄ (v/v = 4/1))加熱分解(Cornelissen et al., 2003)，經原子吸收光譜儀(atomic absorptionspectrophotometry; AAS)測定植體分解液之鎘濃度，並換算成植體乾重的鎘濃度(方法的偵測極限為 11.6 mg kg⁻¹)。

二、植株的鎘毒性與吸收評估

本研究以植株根伸長量(root elongation, *RE*)對應處理溶液的鎘濃度(*Cd_{sol}*)，繪製劑量反應曲線關係：

$$RE = \frac{a}{1+(Cd_{sol}/EC_{50})^b}, \quad [1]$$

其中 *a*、*b* 和 *EC₅₀* 為套配水耕試驗數據求得之特性參數(Chen et al., 2013b)。參數 *a* 的理論值可逼近控制組的反應，參數 *b* 是對抗暴露的反應係數，參數 *EC₅₀* 是造成 50% 反應的暴露強度。

再者，本研究設定植根的乾基鎘濃度(*Cd_{root}*)為植株對鎘的吸收指標，並基於 Michaelis–Menten 動力模式將 *Cd_{root}* 對應 *Cd_{sol}* 的關係，表示如下

$$Cd_{root} = \frac{M \times Cd_{sol}}{k + Cd_{sol}}, \quad [2]$$

其中 *M* 是 *Cd_{root}* 的最大值，*k* 是到達最大吸收 50% 的鎘處理濃度(Chen et al., 2013a)。

結果與討論

一、鈣、鉀對大豆和小麥之鎘毒性的影響

圖一(a)顯示，大豆幼苗根伸長量因鎘濃度上升而顯著遞減的趨勢，然而將鈣離子背景濃度提升至 1.0 和 10 mM 或鉀離子濃度提升至 9.6mM，根伸長量的遞減趨勢可顯著減緩。而圖一(b)則顯示，小麥幼苗根伸長量也因鎘濃度上升而呈遞減的趨勢，但下降幅度顯著小於大豆，顯示小麥對鎘毒性的耐受能力較強，而提升鈣離子濃度對減緩根長因鎘濃度上升而遞減的趨勢無影響，但當鉀離子濃度提升至 9.6mM，小麥根伸長量的遞減趨勢顯著減緩。再經套配公式[1]的劑量反應曲線模式得知，對大豆而言，鈣離子背景濃度 0.5 mM 時 EC_{50} 為 0.89 μM ，將鈣離子濃度提升至 1.0 和 10 mM 時 EC_{50} 可提升至 2.79 和 4.57 μM ；而鉀離子背景濃度 0.3 mM 時 EC_{50} 為 1.43 μM ，將鉀離子濃度提升至 9.6 mM 時 EC_{50} 可提升至 5.74 μM ，顯示提升鈣、鉀離子背景濃度確實能減緩大豆根部對鎘的毒性反應。再者，對小麥而言，鈣離子背景濃度 0.5 mM 時 EC_{50} 為 8.10 μM ，將鈣離子濃度提升至 1.0 和 10 mM 時 EC_{50} 可提升至 12.4 和 15.9 μM ；而鉀離子背景濃度 0.3 mM 時 EC_{50} 為 13.6 μM ，將鉀離子濃度提升至 9.6 mM 時 EC_{50} 可提升至 20.7 μM ，顯示小麥對鎘毒性的耐受能力較強，而且提升鈣、鉀離子背景濃度皆能減緩小麥根部的鎘毒性反應。

二、鈣、鉀對大豆和小麥之鎘吸收的影響

圖二(a)顯示，大豆幼苗根部鎘濃度因溶液鎘濃度上升而呈拋物線遞增的趨勢，當鈣離子背景濃度提升至 1.0 和 10 mM，根部鎘濃度的遞增趨勢可顯著減緩；但提升鉀離子濃度對根部鎘濃度無顯著影響。而圖二(b)顯示，小麥幼苗根部鎘濃度因溶液鎘濃度上升多呈直線遞增的趨勢，顯示在本研究的試驗範圍內，相較於大豆，小麥的鎘吸收能力較強；當鈣離子背景濃度提升至 10 mM 或鉀離子濃度提升至 1.2 和 9.6mM，小麥幼苗根部鎘濃度皆呈顯著下降。再經套配公式[2]的 Michaelis-Menten 模式，求出根部鎘濃度的最大值(M)與達最大值 50%的溶液鎘濃度(k)之比值(M/k)，該比值 M/k 可做為根部吸收溶液鎘的指標(Yang and Juang, 2015)；對大豆而言，鈣離子背景濃度 0.5 mM 時 M/k 為 7.47，將鈣離子濃度提升至 10 mM 時 M/k 可降至 3.23；而鉀離子背景濃度 0.3 mM 時 M/k 為 5.87，將鉀離子濃度提升至 9.6mM 時 M/k 可下降至 3.67，顯示提升鈣、鉀離子背景濃度確實能降低大豆根部對鎘的吸收，而且鈣離子的效應顯著大於鉀離子。再者，對小麥而言，鈣離子背景濃度 0.5 mM 時 M/k 為 2.03，將鈣離子濃度提升至 1.0mM 時 M/k 可降至 1.24；而鉀離子背景濃度 0.3 mM 時 M/k 為 2.44，將鉀離子濃度提升至 9.6mM 時 M/k 下降至 1.8，顯示提升鈣、鉀離子背景濃度能降低小麥根部對鎘的吸收，但效應不如大豆顯著。

結論

經由本研究的探討得知，以大豆而言，提升溶液背景鈣離子濃度以減緩鎘毒性的可能作用與降低鎘吸收的機制有關，而提升鉀離子濃度則可能因為促進植株生長，進而抵銷鎘毒性作用對植株生長的抑制；再者，大豆可能對鈣的營養需求大於鉀，導致提升鈣濃度減緩鎘毒性的作用較提升鉀濃度更為顯著。相對於大豆，小麥對鎘的耐受性較高且吸收量大，提升鉀濃度比提升鈣濃度對減緩鎘毒性的作用顯著。

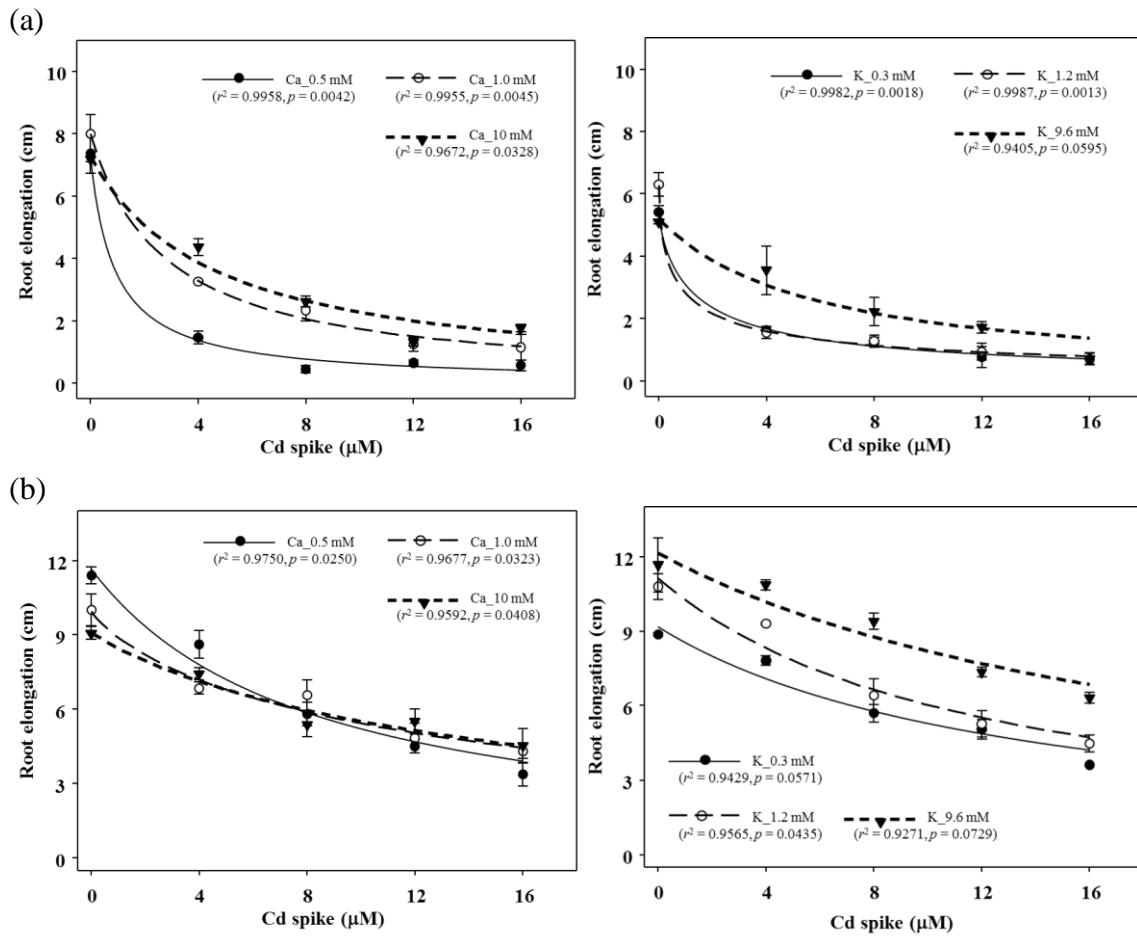
參考文獻

Antunes, P.M.C., and B.A. Hale. 2006. The effect of metal diffusion and supply

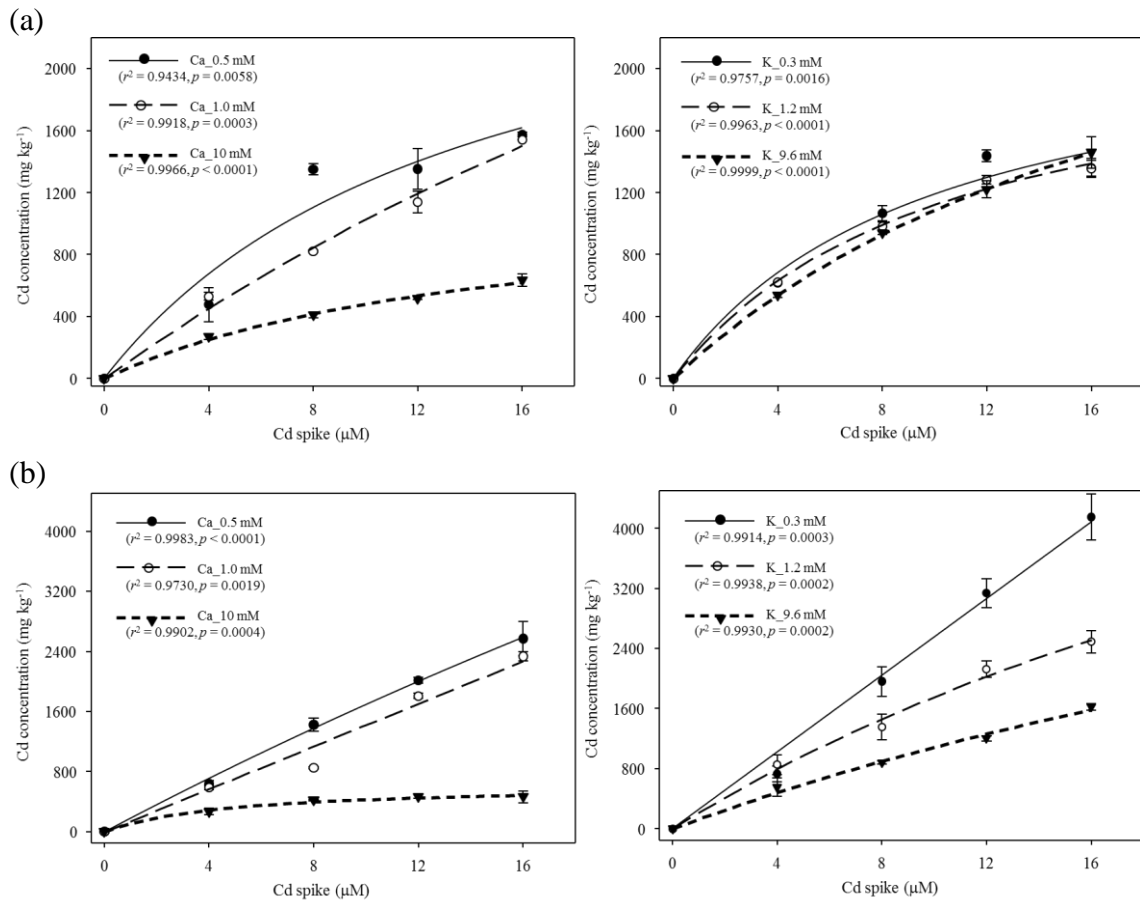
- limitation on conditional stability constants determined for durum wheat roots. *Plant Soil* 284:229-241.
- Arao, T., N. Ae, M. Sugiyama, and M. Takahashi. 2003. Genotypic differences in cadmium uptake and distribution in soybeans. *Plant Soil* 251:247-253.
- Bergmann, W. 1993. *Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen: Entstehung und Diagnose*. G. Fischer Verlag, Stuttgart, Germany.
- Brown, P.L., and S.J. Markich. 2000. Evaluation of the free ion activity model of metal-organism interaction: extension of the conceptual model. *Aquat. Toxicol.* 51:177-194.
- Campbell, P.G.C. 1995. Interactions between trace metals and aquatic organisms: A critique of the free-ion activity model. p.45-102. In: *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. A. Tessier and D.R. Turner (eds.) John Wiley & Sons, New York.
- Chen, P.Y., Y.I. Lee, B.C. Chen, and K.W. Juang. 2013b. Effects of calcium on rhizotoxicity and the accumulation and translocation of copper by grapevines. *Plant Physiol. Biochem.* 73:375-382.
- Chen, B.C., P.C. Ho, and K.W. Juang. 2013a. Alleviation effects of magnesium on copper toxicity and accumulation in grapevine roots evaluated with biotic ligand models. *Ecotoxicology* 22:174-183.
- Cornelissen, J.H.C., S. Lavorel, E. Garnier, S. Díaz, N. Buchmann, D.E. Gurvich, P.B. Reich, H. ter Steege, H.D. Morgan, M.G.A. van der Heijden, J.G. Pausas, and H. Poorter. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 51:335-380.
- Farzadfar, S., F. Zarinkamar, S.A.M. Modarres-Sanavy, M. Hojati. 2013. Exogenously applied calcium alleviates cadmium toxicity in *Matricaria chamomilla* L. plants. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20:1413-1422.
- Ho, P.C., C.H. Yu, B.C. Chen, and K.W. Juang. 2012. A biotic ligand model (BLM) used for assessing alleviation effects of potassium and calcium on cadmium toxicity to soybean. *Crop Environ. Bioinform.* 9:1-14 (in Chinese).
- Ismail, M. A. 2008. Involvement of Ca^{2+} in alleviation of Cd^{2+} toxicity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Asian J. Biol. Sci.* 1:26-32.
- Janssen, C.R., D.G. Heijerick, K.A.C. De Schampelaere, and H.E. Allen. 2003. Environmental risk assessment of metals: tools for incorporating bioavailability. *Environ. Intl.* 28:793-800.
- Juknevičius, S., and N. Sabienė. 2007. The content of mineral elements in some grasses and legumes. *Ekologija* 53:44-52.
- Kiegle, E., M. Gilliam, J. Haseloff, and M. Tester. 2000. Hyperpolarisation-activated calcium currents found only in cells from the elongation zone of *Arabidopsis thaliana* roots. *Plant J.* 21:225-229.
- Kinraide, T.B. 1998. Three mechanisms for the calcium alleviation of mineral toxicities. *Plant Physiol.* 118:513-520.
- Li, P.W., A. Wolthoom, and M. Theo. 2004. Understanding the effects of soil characteristics on phytotoxicity and bioavailability of nickel using speciation models. *Environ. Sci. Technol.* 38:156-162.
- Liu, C. H., W.D. Huang, and C.H. Kao. 2012. The decline in potassium concentration is associated with cadmium toxicity of rice seedlings. *Acta Physiol. Plant.* 34:495-502.
- Liu, Y., M.G. Vijver, and W.J.G.M. Peijnenburg. 2014. Impacts of major cations (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) and protons on toxicity predictions of nickel and cadmium to lettuce

- (*Lactuca sativa* L.) using exposure models. *Ecotoxicology* 23:385-395.
- Lock, K., K.A.C. De Schamphelaere, S. Because, P. Criel, H. Van Eeckhout, and C.R. Janssen. 2007. Development and validation of a terrestrial biotic ligand model predicting the effect of cobalt on root growth of barley (*Hordeum vulgare*). *Environ. Pollut.* 147:626-633.
- Luo, X.S., L.Z. Li, and D.M. Zhou. 2008. Effect of cations on copper toxicity to wheat root: Implications for the biotic ligand model. *Chemosphere* 73:401-406.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd Ed. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- McBride, M.B. 2001. Cupric ion activity in peat soil as a toxicity indicator for maize. *J. Environ. Qual.* 30:78-84.
- Nazar, R., N. Iqbal, A. Masood, M.I.R. Khan, S. Syeed, and N.A. Khan. 2012. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *Am. J. Plant Sci.* 3, 1476-1489.
- Niyogi, S., and C.M. Wood. 2004. Biotic ligand model, a flexible tool for developing site-specific water quality guidelines for metals. *Environ. Sci. Technol.* 38:6177-6192.
- Nolan, A.L., E. Lombi, and M.J. McLaughlin. 2003. Metal bioaccumulation and toxicity in soils – why bother with speciation? *Aust. J. Chem.* 56:77-91.
- Øgaard, A.F., and S. Hansen. 2010. Potassium uptake and requirement in organic grassland farming. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 87:137-149.
- Parker, D.R., and J.F. Pedler. 1997. Reevaluating the free-ion activity model of trace metal availability to higher plants. *Plant Soil* 196:223-228.
- Parker, D.R., J.F. Pedler, D.N. Thomason, and H. Li. 1998. Alleviation of copper rhizotoxicity by calcium and magnesium at defined free metal-ion activities. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 62:965-972.
- Pedler, J.F., T.B. Kinraide, and D.R. Parker. 2004. Zinc rhizotoxicity in wheat and radish is alleviated by micromolar levels of magnesium and potassium in solution culture. *Plant Soil* 259:191-199.
- Peijnenburg, W.J.G.M., and M.G. Vijver. 2007. Metal-specific interactions at the interface of chemistry and biology. *Pure Appl. Chem.* 79:2351-2366.
- Sauvé, S., N. Cook, W.H. Hendershot, and M.B. McBride. 1996. Linking plant tissue concentrations and soil copper pools in urban contaminated soils. *Environ. Pollut.* 94:153-157.
- Shamsi, I.H., L. Jiang, K. Wei, G. Jilani, S. Hua, and G.P. Zhang. 2010. Alleviation of cadmium toxicity in soybean by potassium supplementation. *J. Plant Nutr.* 33:1926-1938.
- Stolt, P., H. Asp, and S. Hultin. 2006. Genetic variation in wheat cadmium accumulation on soils with different cadmium concentrations. *J. Agron. Crop Sci.* 192, 201-208.
- Sugiyama, M., N. Ae, and M. Hajika. 2011. Developing of a simple method for screening soybean seedling cadmium accumulation to select soybean genotypes with low seed cadmium. *Plant Soil* 341:413-422.
- Suzuki, N. 2005. Alleviation by calcium of cadmium-induced root growth inhibition in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Biotechnol.* 22: 19-25.
- Szczerba, M. W., D.T. Britto, and H.J. Kronzucker. 2009. K⁺ transport in plants: Physiology and molecular biology. *J. Plant Physiol.* 166:447-466.
- Vink, J.P.M. 2009. The origin of speciation: Trace metal kinetics over natural water/sediment interfaces and the consequences for bioaccumulation. *Environ. Pollut.* 157:519-527.

- Wagner, G.J. 1993. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv. Agron.* 51:173-212.
- Wang, P., D.M. Zhou, T.B. Kinraide, X.S. Luo, L.Z. Li, D.D. Li, and H. Zhang. 2008. Cell membrane surface potential (ψ_0) plays a dominant role in the phytotoxicity of copper and arsenate. *Plant Physiol.* 148:2134-2143.
- Wang, P., D.M. Zhou, X.S. Luo, and L.Z. Li. 2009. Effects of Zn-complexes on zinc uptake by wheat (*Triticum aestivum*) roots: a comprehensive consideration of physical, chemical and biological processes on bio-uptake. *Plant Soil* 316:177-192.
- Yang, C.M., and K.W. Juang. 2015. Alleviation effects of calcium and potassium on cadmium rhizotoxicity and absorption by soybean and wheat roots. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 178:748-754.
- Yang, C.M., P.C. Ho, C.H. Yu, and K.W. Juang. 2013. Use of biotic ligand model (BLM) for assessing the effects of calcium and potassium on cadmium uptake by soybean seedlings. *Crop Environ. Bioinform.* 10:111-122 (in Chinese).
- Zhao, F.J., C.P. Rooney, and H. Zhang. 2006. Comparison of soil solution speciation and diffusive gradients in thin-films measurement as an indicator of copper bioavailability to plants. *Environ. Toxicol. Chem.* 25:733-742.
- Zorrig, W., Z. Shahzad, C. Abdelly, and P. Berthomieu. 2012. Calcium enhances cadmium tolerance and decreases cadmium accumulation in lettuce (*Lactuca sativa*). *Afr. J. Biotechnol.* 11:8441-8448.



圖一、於不同鈣(0.5, 1.0 and 10 mM Ca)、鉀(0.3, 1.2 and 9.6 mM K)背景濃度下，鎘添加處理濃度與(a)大豆和(b)小麥幼苗根伸長量的關係。



圖二、於不同鈣(0.5, 1.0 and 10 mM Ca)、鉀(0.3, 1.2 and 9.6 mM K)背景濃度下，鎘添加處理濃度與(a)大豆和(b)小麥幼苗根部鎘濃度的關係。

Isolation and characterization of facultatively oligotrophic bacteria

Yu-Shiuan Huang, and Fo-Ting Shen*

Department of Soil and Environmental Sciences, National Chung Hsing University

*Corresponding author: ftshen@dragon.nchu.edu.tw

Abstract

Conventional cultivation method relies on the use of nutrient-rich medium, which easily enriches faster growers and limits the exploration of oligotrophic bacteria from soil ecosystems. In the present study attempts were made to isolate oligotrophic bacteria from non-rhizospheric samples collected from mountain roadside, beach, bay and wetland using 1,000-fold diluted nutrient agar. Phylogenetic analysis and biogeographic studies of these isolates were performed based on their 16S rDNA sequences. Besides, tests for the utilization of methanol or agar as their carbon source (methylotrophic or agarolytic), light as their energy source (photoheterotrophic), fixation of nitrogen or solubilization of tricalcium phosphate were conducted. A total of 74 isolates with facultatively oligotrophic behavior were obtained, since they can proliferate on both 1,000-fold diluted and conventional nutrient agar. 16S rDNA sequence analyses assigned them mainly to class Actinobacteria and α -Proteobacteria. All these isolates belonged to 24 genera which encompassed 35 species, demonstrating that these facultatively oligotrophic bacteria occupied a wide range of bacterial lineages. Fifty-seven out of 74 isolates formed colonies on methanol-containing agar, while only 21 showed better growth in methanol-containing medium. Nine isolates were verified to utilize agar instead of methanol for growth. A total of 4 isolates showed photoheterotrophic trait and the *pufLM* gene was successfully PCR amplified and sequenced. The methylotrophic or photoheterotrophic behaviors might provide advantages for them to inhabit oligotrophic environments. Members affiliated with many genera were first demonstrated to fix nitrogen or solubilize phosphate, and isolates with profound activities have potentials to be developed as bioinoculants used to promote plant growth. In addition, the use of diluted nutrient agar helped to explore several unrecognized species from non-rhizospheric soils. All these isolates may provide opportunities for studying their oligotrophic growth, metabolism and interaction with plants in a near future.

Keywords: facultatively oligotrophic bacteria; methylotrophic; agarolytic; photoheterotrophic; nitrogen fixation; phosphate solubilization

1. Introduction

The heterogeneous soils in natural ecosystems harbor a great diversity of microorganisms, but only small minority are cultivated. Traditional cultivation method using nutrient rich medium easily enriches fast grower such as copiotrophic, Gram-positive and spore-forming bacteria (Kasahara and Hattori, 1991). Based on phylogenetic analysis Mitsui et al. (1997) reported that isolates belonging to the Cytophaga/Flexibacter/Bacteroides division, the Proteobacteria α -subdivision, β -subdivision and the Firmicutes high G+C division, except for *Arthrobacter*-related strains, were oligotrophic bacteria. Bacteria affiliated with phyla Acidobacteria, Actinobacteria and α -Proteobacteria have been further categorized as oligotrophs, while Bacteroidetes and β -Proteobacteria exhibited copiotrophic attributes (Fierer et al., 2007;

Kéki et al., 2013). By using a low organic carbon agar medium and repeating transfer, Senechkin et al. (2010) concluded that the vast majority of strains belonging to the trophic group of microorganisms adapted to a “broad range” of carbon concentrations, including well-known and widespread bacterial genera.

Methylotrophs are those microorganisms able to grow at the expense of reduced carbon compounds containing one or more carbon atoms but containing no carbon-carbon bonds (Anthony, 1982). They have been shown to distribute in environments such as oligotrophic marine waters, lake sediments, soils, plant roots and phyllosphere which contained methanol as a prominent C1 source (Chistoserdova et al., 2009; Dourado et al., 2015; Ramachandran and Walsh, 2015; Vorholt, 2012). Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria (AAnPB) are facultative photoheterotrophs which are capable of oxidizing organic carbon to support their chemotrophic growth, while light seems to be used as a supplementary source of energy (Yurkov and Beatty, 1998). They use organic substrates as the main source of energy, reducing power and carbon, but are capable of photosynthetic light utilization when organic carbon is scarce. AAnPB are globally distributed in the euphotic zone or coastal regions and appear to be critical to the cycling of both organic and inorganic carbon in the ocean (Kolber et al., 2001; Ritchie and Johnson, 2012).

To fulfill the exploration and application of oligotrophic bacteria from non-rhizospheric soils, the present study was undertaken to obtain isolates from both terrestrial and aquatic environments using diluted nutrient agar. All these isolates were subjected to phylogenetic and biogeographic studies. Tests for these isolates to grow under various nutritional conditions, fix nitrogen or solubilize tricalcium phosphate were conducted to screen candidates with plant growth promoting potential.

2. Materials and methods

2.1. Soil sampling and bacterial isolation

In the present work attempts were made to collect soils from nutrient-limited terrestrial environment and coastal areas, which are quite different from rhizospheric soils. Soil were collected with a shovel, put into zipper bags and brought to laboratory. After serial dilutions samples were plated on 1,000-fold diluted nutrient broth agar or 1,000-fold diluted nutrient broth agar containing 3% NaCl. Colonies obtained on diluted nutrient agar were transferred and maintained on conventional nutrient agar at 30°C. Bacterial cultures were preserved in nutrient broth containing 30% glycerol at -80°C.

2.2. Bacterial identification and phylogenetic analysis

Genomic DNA was isolated using UltraClean Microbial Genomic DNA Isolation Kit. 16S rDNA was amplified by PCR with bacterial universal primers (Edwards et al., 1989) and purified using DNA Clean & Concentrator Kit. Cycle sequencing and determination of the nucleotide sequence of PCR product were performed at Genomics BioSci&Tech Ltd., Taiwan. Bacterial identification was carried out by comparing the 16S rDNA sequences of isolates and their most closely-related type strains using EZTaxon Identify function. Besides, based on 16S rDNA sequence, isolates were subjected to biogeographic studies through comparing with their most closely-related environmental strains retrieved from NCBI GenBank database.

2.3. Methanol utilization, *mxnA* gene amplification and agar utilization

Colonies grown on nutrient agar were picked and suspended in phosphate buffer saline to remove residual nutrient from the former medium. Cultures were streaked on

methanol-containing agar or inoculated in methanol-containing mineral salt medium (DSMZ Medium125). After 72 h of cultivation, the growth of isolates on methanol-containing agar was recorded as revealed by the formation of colonies. Bacterial growth in methanol-containing mineral salt medium was compared with that in mineral salt medium without methanol supplement to demonstrate their abilities to utilize methanol. Few isolates were subjected to the analysis of gene encoding for methanol dehydrogenase alpha subunit. The *mxoF* gene was amplified by PCR with primers *mxoF* 1003 and *mxoF* r1561 (McDonald and Murrell, 1997). The amplified *mxoF* gene was separated, purified and cycle sequenced using primer *mxoF*1003 to determine the nucleotide sequence.

Water agar which was prepared by distilled water and 2.0% of bacteriological agar powder was used to screen agar utilizers. Fresh colonies grown on nutrient agar were picked and streaked on water agar. After 120 h of cultivation agar plates were stained with Lugol's solution, and the formation of clear zone around colonies demonstrated their agarolytic activity (Saraswathi et al., 2011).

2.4. Light utilization and *pufL* gene amplification

Utilizations of light by isolates were tested on marine broth (Difco, BD, USA) agar, 10-fold diluted and 100-fold diluted marine broth agar. Fresh colonies grown on nutrient agar were picked, streaked on marine agar or diluted marine agar and placed in cultural chamber under white light. Plates covered with aluminum foil served as control. After 72 h of cultivation, growths of colonies exposed to light or dark-adapted were compared. Isolates which showed better growth under light were subjected to the analysis of gene encoding for photosynthetic reaction center L subunit and M subunit. The *pufLM* gene was amplified by PCR with primers *pufLf* and *pufMr* (Koblížek et al., 2003). The amplified *pufLM* gene was separated, purified and cycle sequenced using primer *pufLf* to determine the nucleotide sequence.

2.5. Nitrogen fixation and phosphate solubilization

To test for isolates with nitrogen-fixing ability, fresh colonies grown on nutrient agar were picked and streaked on nitrogen-free agar (modified from that described by Eckert et al. 2001). After 5-7 days of cultivation isolates which were able to form colonies on nitrogen-free agar were further tested for their nitrogen-fixing activities by the acetylene reduction assay (Hardy et al., 1973). Small vessels containing 5 ml of nitrogen-free semi-solid medium were inoculated with each isolates. After 7 days of cultivation the vessels were sealed with rubber septa. 10% (v/v) of the air phase was replaced with acetylene and the vessels were re-incubated at 30°C for 24 h. The ethylene was measured as described by Hung et al. (2005).

To test for isolates with phosphate-solubilizing ability, fresh colonies grown on nutrient agar were picked and streaked on NBRIP tricalcium phosphate agar (Nautiyal, 1999). After 5-7 days of cultivation isolates which were able to form colonies on tricalcium phosphate agar were further tested for their phosphate-solubilizing activities. Colonies were picked, suspended in normal saline and inoculated in tricalcium phosphate medium. After 5 days of cultivation the supernatant obtained by centrifugation was passed through a 0.45 µm Millipore filter (Merck, Taiwan). Soluble phosphate of the cultural filtrate was determined by the vanadomolybdophosphoric acid colorimetric method (Barton, 1948).

2.6. Nucleotide sequence Accession Number

The 16S rDNA sequences obtained in this study were deposited in the GenBank database under Accession Number KX022792-KX022865. The *mxoF* gene sequences

were deposited under Accession Number KX250273-KX250274. The *pufLM* gene sequences were deposited under Accession Number KX250275-KX250278.

3. Results and discussion

3.1. Population diversity and phylogenetic analysis

In the present study a total of 74 isolates were obtained on 1,000-fold diluted nutrient agar from 4 non-rhizospheric soil samples. The utilization of fewer nutrients within diluted cultural medium by these isolates demonstrated their oligotrophic behavior. In addition, the facultative oligotrophic growth can also be seen in these isolates since all of them formed colonies on conventional nutrient agar. 16S rDNA sequences of these isolates assigned them to the phylum Actinobacteria (30/74), Firmicutes (2/74) and Proteobacteria (42/74). Among them, sixty-six isolates shared high sequence similarities (>98%) of 16S rDNA with their most closely-related species. The remaining 8 isolates which showed higher variation (>2%) of 16S rDNA sequences compared with type strains might represent as novel species (Kaeberlein et al., 2002; Stackebrandt and Goebel, 1994). All these isolates belonged to 24 different genera which encompassed 35 species, demonstrating that these facultatively oligotrophic bacteria occupied a wide range of bacterial lineages.

In red soils of mountain roadside a total of 13 isolates affiliated with 11 species and a possibly novel species were obtained. In sandy soils of Tongsiao beach all these isolates belonged to the phylum Proteobacteria, and majority was affiliated with *Aureimonas altamirensis* and *Brevundimonas aurantiaca*. In sandy soils of Baisha bay *Nocardioides marinus* was the dominant population. Considered for the isolations from four different soil samples, the distribution of a total of 8 bacterial lineages namely *Brevundimonas aurantiaca*, *Erythrobacter gaetuli*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Mycobacterium rufum*, *Nocardioides ganghwensis*, *Nocardioides marinus*, *Rhizobium rosettiformans* and *Sphingopyxis contaminans* in two or three non-rhizospheric soils was evidenced. This provided hints regarding the oligotrophic nature of these isolates.

3.2. Biogeographic distribution

Isolates obtained from the present work were subjected to biogeographic studies. Thirteen isolates (OTB1-OTB13) which were from red soils of mountain roadside shared high sequence similarities (99-100%) with strains obtained from bulk and agricultural soils, plant organs such as seed, root and leaf. A majority of these environmental samples were collected from Asia region. Twenty-one isolates (OTB14-OTB34) from sandy soils of Tongsiao beach, the western part of Taiwan shared high sequence similarities with strains mainly collected from China, and the samples were generally with higher osmotic pressure such as salt mine deposit, lake, lake sediment and marine sediment. Twenty-three isolates (OTB35-OTB57) from sandy soils of Baisha bay, the southern part of Taiwan shared high sequence similarities with strains mainly obtained from seawater, tidal flat of the sea or sediment from Korea. Seventeen isolates (OTB58-OTB74) from sandy soils of Gaomei wetland, the central part of Taiwan shared high sequence similarities with strains obtained from water and sediment samples from Asia region. Considered for the ecological meaning of these isolations, generally red soils harbored isolates which were taxonomically similar to strains from terrestrial environments, while isolates obtained from sandy soils collected from beach, bay or wetland were related to strains from aquatic environments such as lake, marine and sea. Besides, the similar geographic origin of the present isolates and their most closely-related strains in Asia region was demonstrated. These isolates might also

provide opportunities for studying their ecological roles in different ecological niches.

3.3. Methanol utilization and *mxoF* gene amplification

Fifty-seven out of 74 isolates formed colonies on methanol-containing agar. When they were inoculated separately in methanol-containing mineral salt medium, only 21 isolates showed better growth compared with that in mineral salt medium without methanol supplement. In the present study isolates affiliated with genera *Aureimonas*, *Nocardioides*, *Roseomonas*, *Sinomonas* and *Sphingopyxis* were first demonstrated to utilize methanol as carbon source for growth.

In an independently long-term batch culture system, *Methylobacterium* sp. OTB46 which belonged to a well-known methylotrophic genus and *Aureimonas* sp. OTB18, which has not been reported as methylotrophic bacterium was inoculated separately in methanol-containing mineral salt medium, and bacterial growth was monitored during 240 h of cultivation. *Methylobacterium* sp. OTB46 showed a prominent growth in the presence of methanol during the first 120 h of cultivation, with an increase in bacterial number from 5.9×10^7 to 1.5×10^8 CFU ml⁻¹. After 120 h of cultivation, viable number of bacterium declined which might own to the exhaustion of methanol in the cultural medium. As for *Aureimonas* sp. OTB18 which showed a different growth pattern in methanol-containing mineral salt medium, there was no obvious growth during the first 120 h of cultivation while viable number of bacterium increased from 4.8×10^6 to 4.8×10^7 CFU ml⁻¹ after 120 h of cultivation.

The *mxoF* gene was successfully PCR amplified and sequenced from isolates OTB46 and OTB18. The nucleotide sequence of *mxoF* gene in *Methylobacterium* sp. OTB46 was 100% (502/502) identical to that in *Methylobacterium radiotolerans* JCM 2831^T (EF562472). However, when *mxoF* nucleotide sequence of *Aureimonas* sp. OTB18 was blasted, the most closely-related sequence with 96% (491/513) in identity was a ribosomal RNA operon-containing contig (LC066370) in *Aureimonas altamirensis*. By using the translated *mxoF* gene to search protein database in NCBI GenBank with blastX function, it was demonstrated that the hypothetical protein (BAT25653) encoded by the contig shared 99% (169/171) identity with *mxoF* amino acid sequence of OTB18. Interestingly, genes encoding for this protein were indicated to be present on a small plasmid and annotated to contain region noted as methanol dehydrogenase. Besides, the translated *mxoF* gene of OTB18 also shared 91% (155/171) and 89% (153/171) identities with methanol dehydrogenase from strains affiliated with the genera *Paracoccus* (WP_028714608) and *Ancylobacter* (WP_018391124), respectively. The presence of *mxoF* gene in isolates OTB46 and OTB18 provided genetic evidence for the potential utilization of methanol by both isolates.

3.4. Agar utilization

Isolates which can form colonies on methanol-containing agar but failed to proliferate in methanol-containing mineral salt medium may be due to their abilities to utilize agar as carbon source. Therefore, water agar was used as medium to screen 74 isolates which can utilize agar for growth. A total of 42 isolates can grow on water agar. Among them, production of clear zone around colonies on water agar was found in 17 isolates after stained with Lugol's solution. In combination with methanol utilization test, a total of 9 isolates were demonstrated to utilize agar instead of methanol for growth since they can form colonies on methanol-containing agar but failed to proliferate in methanol-containing mineral salt medium.

3.5. Light utilization and *pufL* gene amplification

AAnPB have been shown to be widespread in tropical surface waters and in

temperate coastal waters (Kolber et al., 2000). In the present study a total of 6 isolates namely *Altererythrobacter* sp. OTB41, *Erythrobacter* sp. OTB36, *Erythrobacter* sp. OTB68, *Methylobacterium* sp. OTB46, *Porphyrobacter* sp. OTB63 and *Rhizobium* sp. OTB26 were demonstrated to show better growth under light.

The *pufLM* gene was successfully PCR amplified from all 6 isolates, and 4 sequences were obtained. The PufL amino acid sequence of *Altererythrobacter* sp. OTB41 shared 92% identity with that of *Erythrobacter marinus* HWDM-33^T, while it showed only 70% in PufM amino acid sequence between two strains. In *Methylobacterium* sp. OTB46, both PufL and PufM amino acid sequences were 100% identical to that in *Methylobacterium radiotolerans* JCM 2831^T. The PufL amino acid sequence of *Porphyrobacter* sp. OTB63 shared 97% identity with that of *Porphyrobacter neustonensis* DSM 9434^T, and it showed 93% in PufM amino acid sequence between two strains. In *Rhizobium* sp. OTB26, the PufL amino acid sequence shared 98% identity with that in *Rhizobium* sp. AAP116.

3.6. Plant growth promoting traits

A total of 25 isolates can grow on nitrogen-free agar, and the acetylene reduction assay showed that 19 isolates possessed nitrogen-fixing activities ranging from 0.031 to 0.14 nmol ethylene tube⁻¹ hr⁻¹. The nitrogen-fixers obtained in the present study belonged to 12 genera. As for tricalcium phosphate solubilization, fifty-five out of 74 isolates can grow on tricalcium phosphate agar. Among them, thirty-three isolates affiliated with a wide range of bacterial lineages showed phosphate-solubilizing activities ranging from 10.10 to 331.48 µg ml⁻¹. Better performances (> 100 µg ml⁻¹) were recorded in members belonging to genera *Aureimonas*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Nocardioides*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Sinomonas* and *Sphingopyxis*.

The facultatively oligotrophic bacteria which can utilize methanol or light might have more advantages for colonizing in oligotrophic environments. With profound nitrogen-fixing or phosphate-solubilizing activities, they might serve as biofertilizers used in folia application or inoculated in the rhizosphere to promote plant growth.

4. Conclusions

In the present study a variety of facultatively oligotrophic bacteria were isolated from non-rhizospheric soils and phylogenetically clarified. The methylotrophic, agarolytic and photoheterotrophic behaviors of some isolates were demonstrated. Members affiliated with many genera were first demonstrated to possess free-living nitrogen-fixing or tricalcium phosphate-solubilizing activities. In addition, the use of 1,000-fold diluted nutrient agar helped to explore several unrecognized species from non-rhizospheric soils. All these facultatively oligotrophic bacteria may provide opportunities for studying their oligotrophic growth, metabolism and interaction with plants in a near future.

Acknowledgements

This research work was kindly supported by grants from the Ministry of Science and Technology and in part by the Ministry of Education, Taiwan, Republic of China under the ATU plan.

References

Anthony, C. 1982. The biochemistry of methylotrophs. Academic Press, London, United Kingdom.

- Barton, C.J. 1948. Photometric analysis of phosphate rock. *Anal. Chem.* 20, 1068-1073.
- Chistoserdova, L., M.G. Kalyuzhnaya, and M.E. Lidstrom. 2009. The expanding world of methylotrophic metabolism. *Annu. Rev. Microbiol.* 63:477-499.
- Dourado, M.N., A.A. Camargo Neves, D.S. Santos, and W.L. Araújo. 2015. Biotechnological and agronomic potential of endophytic pink-pigmented methylotrophic *Methylobacterium* spp. *Biomed. Res. Int.* 2015:909016.
- Eckert, B., O.B. Weber, G. Kirchhof, A. Halbritter, M. Stoffels, and A. Hartmann. 2001. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C₄-grass *Miscanthus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51:17-26.
- Edwards, U., T. Rogall, H. Blöcker, M. Emde, and E.C. Böttger. 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res.* 17:7843-7853.
- Fierer, N., M.A. Bradford, and R.B. Jackson. 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88:1354-1364.
- Hardy, R.W.F., R.C. Burns, and R.D. Holsten. 1973. Application of the acetylene reduction assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil. Biol. Biochem.* 5:47-81.
- Hung, M.H., A.B. Arun, F.T. Shen, P.D. Rekha, and C.C. Young. 2005. Indigenous rhizobia associated with native shrubby legumes in Taiwan. *Pedobiologia* 49:577-584.
- Kaerberlein, T., K. Lewis, and S.S. Epstein. 2002. Isolating "uncultivable" microorganisms in pure culture in a simulated natural environment. *Science* 296:1127-1129.
- Kasahara, Y., and T. Hattori. 1991. Analysis of bacterial populations in a grassland soil according to rates of development on solid media. *FEMS Microbiol. Ecol.* 9:95-101.
- Kéki, Z., K. Grébnér, V. Bohus, K. Márialigeti, and E.M. Tóth. 2013. Application of special oligotrophic media for cultivation of bacterial communities originated from ultrapure water. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 60:345-357.
- Koblížek, M., O. Béjà, R.R. Bidigare, S. Christensen, B. Benitez-Nelson, C. Vetriani, M.K. Kolber, P.G. Falkowski, and Z.S. Kolber. 2003. Isolation and characterization of *Erythrobacter* sp. strains from the upper ocean. *Arch. Microbiol.* 180:327-338.
- Kolber, Z.S., F.G. Plumley, A.S. Lang, J.T. Beatty, R.E. Blankenship, C.L. Van Dover, C. Vetriani, M. Koblížek, C. Rathgeber, and P.G. Falkowski. 2001. Contribution of aerobic photoheterotrophic bacteria to the carbon cycle in the ocean. *Science* 292:2492-2495.
- Kolber, Z.S., C.L. Van Dover, R.A. Niedeman, and P.G. Falkowski. 2000. Bacterial photosynthesis in surface waters of the open ocean. *Nature* 407:177-179.
- McDonald, I.R., and J.C. Murrell. 1997. The methanol dehydrogenase structural gene *mxhF* and its use as a functional gene probe for methanotrophs and methylotrophs. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:3218-3224.
- Mitsui, H., K. Grolach, H.J. Lee, R. Hattori, and T. Hattori. 1997. Incubation time and media requirements of culturable bacteria from different phylogenetic groups. *J. Microbiol. Methods* 30:103-110.
- Nautiyal, C.S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 170:265-270.
- Ramachandran, A., and D.A. Walsh. 2015. Investigation of XoxF methanol dehydrogenases reveals new methylotrophic bacteria in pelagic marine and

- freshwater ecosystems. *FEMS Microbiol. Ecol.* 91:fiv105.
- Ritchie, A.E., and Z.I. Johnson. 2012. Abundance and genetic diversity of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria of coastal regions of the Pacific Ocean. *Appl. Environ. Microbiol.* 78:2858-2866.
- Saraswathi, S., V. Vasanthabharathi, V. Kalaiselvi, and S. Jayalakshmi. 2011. Characterization and optimization of agarase from an estuarine *Bacillus subtilis*. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5:2960-2968.
- Senechkin, I.V., A.G. Speksnijder, A.M. Semenov, A.H. van Bruggen, and L.S. van Overbeek. 2010. Isolation and partial characterization of bacterial strains on low organic carbon medium from soils fertilized with different organic amendments. *Microb. Ecol.* 60:829-839.
- Stackebrandt, E., and B.M. Goebel. 1994. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in Bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44:846-849.
- Vorholt, J.A. 2012. Microbial life in the phyllosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* 10:828-840.
- Yurkov, V.V., and J.T. Beatty. 1998. Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62:695-724.

臺灣農地土壤碳儲存量及碳吸存速率之評估

崔君至¹、簡士濠²、郭鴻裕³、陳尊賢^{1*}

1 國立臺灣大學農業化學系土壤調查與整治研究室，臺北市 10617，臺灣

2 國立屏東科技大學水土保持系，屏東縣內埔鄉 91201，臺灣

3 行政院農業委員會農業試驗所農業化學組，臺中市霧峰區 41301，臺灣

*通訊作者：soilchen@ntu.edu.tw

摘要

為了瞭解土壤品質及生產力、發展全球碳循環模型與評估全球氣候變遷，必須正確量化土壤中的有機碳儲存量。臺灣目前尚未建立土壤碳含量變化之監測系統，以往農業試驗所執行過的詳細土壤調查計畫，調查範圍幾乎涵蓋全臺灣農地，故歷史資料庫可作為估算土壤有機碳存量的最佳來源。本研究目的為：(1)估算臺灣農地不同深度土壤之有機碳存量，及 (2) 評估臺灣農地土壤碳吸存速率是否可達到聯合國氣候變化綱要公約第 21 屆締約國大會 (COP21) 在巴黎協定 (Paris Agreement) 中訂定的 0.4% 目標。初步研究結果顯示，臺灣農地 0-15 公分土壤平均碳存量為 $2.86 \pm 1.43 \text{ kg m}^{-2}$ ，15-30 公分土壤平均碳存量為 $2.57 \pm 1.44 \text{ kg m}^{-2}$ ，30-50 公分土壤平均碳存量為 $4.56 \pm 2.99 \text{ kg m}^{-2}$ ；估計全臺灣農地表土 0-30 公分及 0-50 公分內土壤碳儲存量分別為 50.0 Tg 及 86.7 Tg ($1 \text{ Tg} = 10^{12} \text{ g}$)，0-100 公分土壤碳儲存量為 107.0-133.4 Tg。如欲達到巴黎協定的 0.4% 目標，預計臺灣 0-30 公分土壤每年碳吸存量須達到 $0.226 \text{ t C ha}^{-1}$ ；根據少數長期試驗研究的結果估計，在適當管理系統下，臺灣農地 0-30 公分土壤每年每公頃可增加 0.74 至 1.33 噸土壤有機碳，土壤碳吸存率為每年 0.46 至 0.83 tCha^{-1} ，平地造林地之 0-20 公分土壤平均每年每公頃可增加 0.34 噸碳，均可超過巴黎協定的 0.4% 目標。

關鍵詞：臺灣農地 (arable land of Taiwan)，有機碳儲存量 (soil organic carbon stock)，碳吸存率 (carbon sequestration rate)，巴黎協定 (Paris Agreement)

一、前言

由於氣候暖化造成環境變遷，現今國際上所關心的不外三大議題：全球氣候變遷的因應、長期食品安全與生質能源安全，以及永續的環境。近年來越來越多研究聚焦於不同生態系碳存量的定量與模式推估 (Batjes, 1996; Jobbagy and Jackson, 2000)，據估計，全球土壤 (0-1 m) 碳庫存量約 2500 Gt，其中有機碳約 1550Gt，無機碳約 950 Gt (Lal, 2004)；土壤貯存的碳量是大氣碳庫 (~830Gt) 的 3 倍、化石燃料每年排放量 (~10 Gt) 的 240 倍 (Ciais et al., 2013)。雖然不同土壤的土地利用與經營、氣候、地質和地形等有所差異，但可以確定的是，土壤有機碳庫可作為大氣中二氧化碳氣體的來源與匯池 (Trumbore, 1997)，土壤碳庫可影響全球暖化，而改變土地利用方式及農業活動之經營管理則可能對土壤碳存量造成巨大衝擊。因此，為了瞭解土壤品質、全球碳循環模型及評估全球氣候變遷，有必要正確地量化土壤有機碳存量。

2015 年 12 月，聯合國氣候變化綱要公約第 21 屆締約國大會 (COP21) 在巴黎

敲定了氣候變遷協定，以 2100 年前不比工業時代前升溫攝氏 2 度為目標，理想是維持溫度升幅在攝氏 1.5 度以下。為了遏阻全球暖化，主導的法國政府將焦點放在土壤及土壤對溫室效應的減緩能力上，並設立了國際性研究計畫--千分之四 (4 pour mille, or 4 for 1000)，旨在幫助土壤有機碳每年增加 0.4%，以土壤每年增加的有機碳來抵銷使用化石燃料所增加的溫室氣體，因為以土壤吸存碳是少數可大規模應用且潛在成本較低的策略之一(Paustian et al., 2016)。在提出因應對策之前，須了解 0.4% 之訂定：估計全球每年因化石燃料產生的碳排為 8.9 十億噸 (8.9×10^{15} g)，估計全球 2 公尺深度土壤的碳存量為 2400 十億噸 (2400×10^{15} g) (Batjes, 1996)，將人為產生的總碳排放除以土壤總有機碳存量 ($8.9/2400$) 即為 0.4%。為了便於使用及估算，須先轉換為土壤每公頃的碳存量，再估算欲達到 0.4% 的目標則每年須增加多少碳吸存量，所以首先必須掌握土壤中的有機碳存量。

臺灣目前仍缺乏以詳細土壤調查為基礎而準確估算的全區性土壤碳存量，也尚無全面而長期的土壤碳含量監測計畫。由臺灣農業試驗所歷年執行過的詳細調查計畫中，雖然不是以監測全臺灣土壤碳含量的時間變異或空間變異為目的，但調查範圍幾乎涵蓋全臺灣農地，因此歷史資料庫仍是估算土壤有機碳存量的最佳資源。臺灣本島土地面積約 360 萬公頃，其中森林面積佔約 210 萬公頃、耕地面積大約 80 萬公頃。為瞭解這些農地的基本資料以應用至農林生產方面，過去臺灣地區曾進行多次土壤調查，大致可歸納為肥力調查與生產力調查，土壤調查計畫之施行皆有階段性目標，以提供肥培管理、施肥推薦之參考為主要目的(郭鴻裕等，2002)，其中較全面詳細的土壤肥力調查共有四次：第一次為 1949-1950 年間之全省地力測定，第二次為 1959 年開始的臺灣省農田肥力測定計畫，第三次為 1978 年 7 月開始之臺灣省土壤肥力能限分類規範調查研究計畫，第四次為 1992 年開始之臺灣省農田土壤環境品質及生產力調查計畫(陳琦玲等，2000)。本研究目的為：(1)估算臺灣農地不同深度土壤之有機碳存量，及(2)評估臺灣農地土壤碳吸存速率是否可達到聯合國氣候變化綱要公約第 21 屆締約國大會 (COP21) 在巴黎協定 (Paris Agreement) 中訂定的 0.4% 目標。

二、材料與方法

2.1 農地土壤資料庫

本研究採用的土壤資料庫為臺灣農業試驗所農業化學組郭鴻裕組長主持之調查計畫，在農地以每 250 公尺×250 公尺的網格(6.25 公頃)為一個採樣單位，用土鑽採集土壤剖面深度 0-15、15-30、30-60、60-90、90-120 及 120-150 公分的土樣，分析項目包括：pH (分析至深度 150 cm)、有機質(分析至深度 150 cm)、陽離子交換容量(CEC)(分析至深度 60 cm)、Mehlich-3 萃取法之有效性磷、鉀、鈣、鎂(分析至深度 60 cm)，及 0.1N HCl 萃取之重金屬含量(鎘、銅、鎳、鉛、鋅、鐵、錳)(分析至深度 30 cm)等；土壤有機質含量是採用高溫灰化法測定。本次調查全臺灣耕地土壤剖面數共計十三萬餘。

2.2 總體密度及土壤碳存量的估算

假設土壤有機質中 58% 為有機碳，首先將資料庫中的有機質含量除以 1.724 (Van Bemmelen factor) 轉換為土壤有機碳含量，再以式(1)計算每單位面積之土壤有機碳量：

$$\text{SOC density (kg m}^{-2}\text{)} = [\text{SOC (g kg}^{-1}\text{)} \times \text{Bd (g cm}^{-3}\text{)} \times \text{thickness (cm)}] / 100 \dots\dots\dots (1)$$

由於土壤總體密度(bulk density, Bd)的採樣及測定較昂貴、耗費人力及時間，故在土壤資料庫中通常較為缺乏。本研究利用式(2)之土壤轉換函數(pedotransfer function, PTF)求得各土壤剖面深度的總體密度(Tsui et al., 2013a)：

$$\text{Bd} = 1.3026 + 0.169 \text{ Log (thickness)} - 0.256 [\text{Ln (SOC)}]^2 \dots\dots\dots (2)$$

將式(2)求出的總體密度代回式(1)，即可得到各土壤剖面在不同深度下的平均有機碳存量。利用平均碳存量進行空間內插法後，以 250 m × 250 m 的解析度匯出，每個 250 m × 250 m 網格得到一平均碳存量及面積，農地土壤總碳存量以式(3)計算：

$$\text{SOC stock}_h = \sum_{i=1}^n \text{SOCD}_{ih} \times \text{Area}_{\text{grid}} \dots\dots\dots (3)$$

其中 h 為土壤深度， i 表示 h 深度第 i 個土壤網格， $\text{Area}_{\text{grid}}$ 表示第 i 個網格面積。本研究採用一般克利金 (Ordinary kriging) 為空間內插法，以 ArcGIS 9.3 軟體運算及繪圖。

三、結果與討論

3.1 農地土壤碳存量之空間分布

農地 0-15 公分土壤碳存量為 $2.86 \pm 1.43 \text{ kg m}^{-2}$ ，15-30 公分土壤碳存量為 $2.57 \pm 1.44 \text{ kg m}^{-2}$ ；30-50 公分土壤碳存量為 $4.56 \pm 2.99 \text{ kg m}^{-2}$ (表 1)。農地土壤有機碳的空間分布推估如圖 1 至圖 3 所示。0-15 公分的表土中，有機碳存量較高之處($>4 \text{ kg m}^{-2}$)主要位於桃園台地、中部彰化快官地區的有機質土(Histosols)，以及東北部雪山山脈及蘭陽平原的交界處，有機碳存量較低之處($<2 \text{ kg m}^{-2}$)位於西南部海岸平原及花東縱谷(圖 1)。0-30 公分(圖 2)及 0-50 公分(圖 3)土壤有機碳存量之空間分布與 0-15 公分相近。

表 1、臺灣農地土壤之平均有機碳存量(kg m^{-2})

Table 1. Statistical summary of soil organic carbon density (SOCD, kg m^{-2}) at different depth for arable soils in Taiwan

Depth	Number of values	Mean (kg m^{-2})	Min (kg m^{-2})	Max (kg m^{-2})	Standard deviation
0-15 cm	117,622	2.86	0.01	26.1	1.43
15-30 cm	87,955	2.57	0.01	43.6	1.44
30-50 cm	74,302	4.56	0.02	73.1	2.99

根據以上空間分布的推估結果，臺灣農地土壤 0-15 公分、0-30 公分及 0-50 公分之有機碳總儲存量分別為 26.6 Tg、50.0 Tg 及 86.7 Tg(1 Tg = 10^{12} g)。前人研究指出臺灣表土 30 公分內的有機碳儲存量約佔地表 1 公尺內碳存量的 65-81% (Chen and Hseu, 1997; Jien et al., 2010)，由此推算，農地 0-100 公分土壤有機碳總

儲存量約為 107.0-133.7 Tg(表 2)。本研究對 0-30 公分土壤碳存量的估算值(51.0 ton ha^{-1})與 Jien et al. (2010) (48.2 ton ha^{-1})及陳琦玲等(2000)(表土 20 公分內為 32.4 ton ha^{-1} , 相當於 0-30 公分內為 48.6 ton ha^{-1})的估算值相近, 但高於 Chen and Hseu (1997) 的估算值, 且隨土壤剖面深度增加, 與前人估算的差異越大(表 2)。估算差異可能源自於資料庫(剖面樣本數)大小不同, 亦即樣本分布是否足以反映出土壤有機碳的空間變異; 一般而言, 土壤樣本數越多, 克利金法繪製的土壤性質圖越準確(Xie et al., 2011; Kravchenko, 2003)。本研究採用的資料庫來自詳細的土壤調查, 與其他研究相較之下, 應足以提供許多重要的資訊。另外, 計算有機碳存量須用到的土壤有機碳含量及總體密度, 前人研究是基於土壤剖面的實際測定值, 本研究則用其他參數轉換而來, 也可能是造成差異的原因之一。

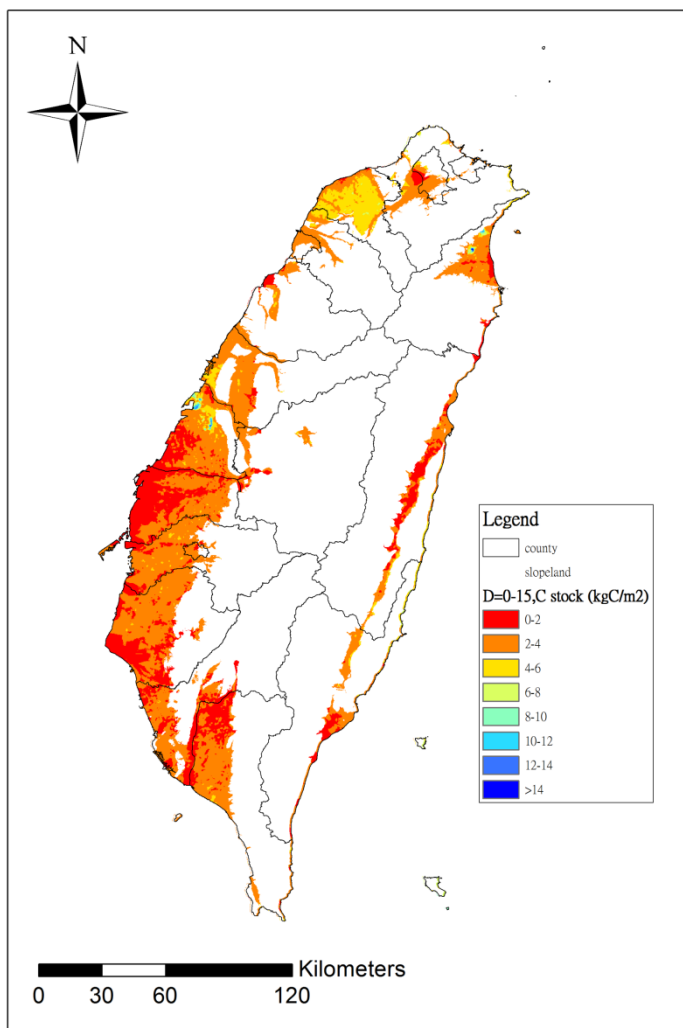


圖 1. 臺灣農地土壤 0-15 公分有機碳存量之空間分布
(圖例為：0-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-10, 10-12, 12-14, >14 kg m⁻²)

Figure 1. Distribution of soil organic carbon density (SOCD) in 0-15cm soil layers of arable land

當植被類型和土壤管理方式改變，即有許多因子決定了土壤有機碳含量的變化速率及方向(Post and Kwon, 2000)，在農地，收穫後作物殘體的質與量可影響土壤碳存量的方向與含量(Paustian et al., 1998)。印尼爪哇(Minasny et al., 2011) 及菲律賓(Pampolino et al., 2008)的研究指出持續種植水稻的耕作系統可增加土壤有機碳存量，以本研究為例，桃園台地種植水稻的面積佔較大比例，可能因而土壤有機碳存量在北臺灣相對較高(圖 1)。

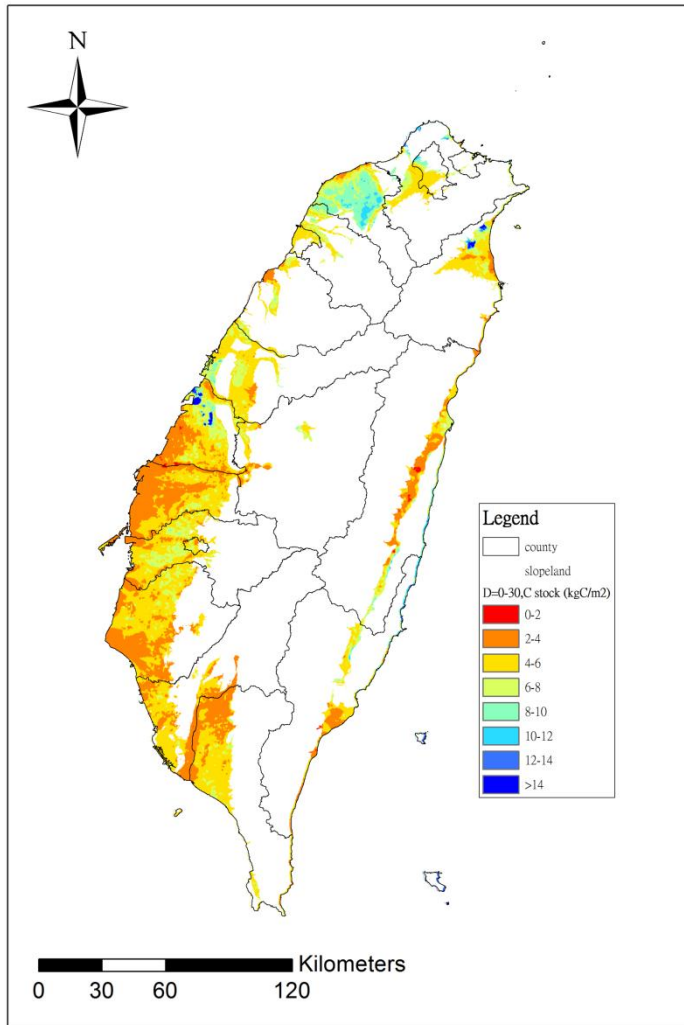


圖 2. 臺灣農地土壤 0-30 公分有機碳存量之空間分布
(圖例為：0-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-10, 10-12, 12-14, >14 kg m⁻²)

Figure 2. Distribution of soil organic carbon density (SOCD) in 0-30cm soil layers of arable land

臺灣目前雖然缺乏足夠的資料可證明不同作物或土地利用方式對農地土壤碳存量的衝擊，但有報告指出，部分地區的作物輪作系統及施肥確實可增加表土有機碳濃度(自 1950 至 1994 年)(Jien et al., 2010)；而以臺南為例，從 1969 年至 2002 年，原本種植水稻改為旱作或休耕的土地，其表土 30 公分內的土壤有機碳存量有減少的趨勢(Jien et al., 2010)。陳琦玲等 (2000)也指出種植水稻的土壤比種其他作物可累積較多土壤有機碳。

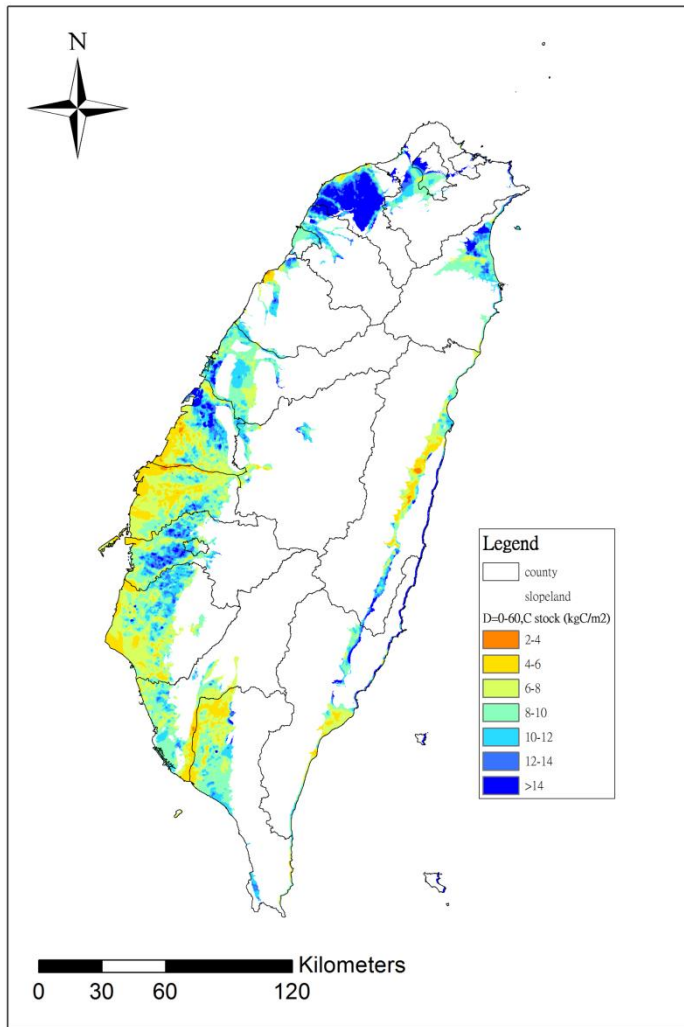


圖 3. 臺灣農地土壤 0-50 公分有機碳存量之空間分布
(圖例為：2-4, 4-6, 6-8, 8-10, 10-12, 12-14, >14 kg m⁻²)

Figure 3. Distribution of soil organic carbon density (SOCD) in 0-50cm soil layers of arable land

土壤有機碳存量的現況、隨時間的變化及空間分布仍有許多未知或不確定，尤其是山區土壤，因為山區土壤樣本數較少，加以常缺乏計算碳存量所必需的總體密度資料。臺灣海拔 100 公尺以下的土地屬於農地，海拔 100 至 1000 公尺山區劃分為山坡地，海拔 1000 公尺以上山區則為森林地，土壤調查及管理分屬於不同

的主管機關，故資料庫之取得與整合均不易。[Tsai and Chen \(2002\)](#)推估台灣森林土壤部份土綱的有機碳含量(0-1 m)，其中以淋澱土貯存量最高 (37.2 kg C m⁻²)，可能是由於其表土或淋澱層(spodic horizon) 累積較多的有機質，其次為極育土 (27.9 kg C m⁻²)、灰爐土 (26.6 kg C m⁻²)、弱育土 (23.2 kg C m⁻²)與新成土 (13.7 kg C m⁻²)，然估算值變異高達 51~80%；利用北、中、南部森林地區共 101 個土壤樣體推估台灣森林土壤有機碳總儲存量，估算結果表土 0-30 cm 內為 270 Tg、0-50 cm 為 360 Tg、0-100 cm 為 464 Tg。[Tsai et al. \(2010\)](#) 利用 165 個土壤樣體修正台灣森林之土壤有機碳總儲存量，估計表土 0-30 cm 內為 114 Tg、0-50 cm 為 126 Tg、0-100 cm 為 160 Tg。就臺灣森林土壤而言，土壤有機碳存量的變異顯著受氣溫及海拔梯度所影響([Tsai et al., 2012](#); [Tsui et al., 2013b](#))；就農地土壤而言，因臺灣南部氣候較為溫暖，利於有機質分解，土壤有機碳存量有由北往南遞減的趨勢([陳琦玲等, 2000](#))。

表 2. 臺灣農地土壤有機碳總儲存量之估算

Table 2. Estimates of total SOC stocks in arable land of Taiwan

Source	Depth (cm)	Total SOC stocks (Tg)	Computed area (million ha)	Average SOC stock (ton/ha)	Database
This study	0-15	26.6	0.98	27.1	grid sampling (n > 110,000)
	0-30	50.0		51.0	
	0-50	86.7		88.5	
	0-100	107.0-133.4		109.2-136.1	
Chen et al. (2000)	0-20	21.7	0.78	27.8	soil survey in 1960's (n=78,635)
	0-20	27.5	0.85	32.4	soil survey in 1980's (n=5,730)
Chen and Hseu (1997)	0-30	61.1	1.68	36.4	soil pedons of different Soil Order (n=100)
	0-50	84.5		50.3	
	0-100	122.8		73.1	
Jien et al. (2010)	0-30	81	1.68	48.2	soil pedons of different Soil Order (n=387)
	0-50	113		67.3	
	0-100	162		96.4	

3.2 不確定性

計算土壤有機碳存量需要測定土壤有機碳含量、總體密度、含石量及土壤深度，這些參數都具有空間變異性及不同程度之測定誤差([Schrumpp et al., 2011](#))。本研究採用的資料庫中，土壤有機質是用高溫灰化法(loss-on-ignition, LOI)測定其含量，計算前假設土壤有機質平均含 58% 的有機碳，一律以標準的轉換因子(Van Bemmelen factor=1.724) 換算成有機碳含量，然而不同性質土壤之間有機質的含碳率變異很高，單一轉換因子無法適用於所有土壤，某些土壤的轉換因子甚至高達 2.0 ([Nelson and Sommers, 1996](#))，土壤有機質組成、無機碳含量、黏粒含量及黏土礦物組成也會影響土壤有機碳與 LOI 測定值之間的關係([Ping and Dobermann,](#)

2006)。本研究資料庫的土壤樣品來自全台各地不同土壤母質、氣候、作物系統及土壤性質，故轉換因子的變異應該很高。另外，龐大的土壤樣品分析須耗費相當大的人力與時間，測定過程中可能影響部分數據品質，也是不確定的來源之一。

另一重要的參數為總體密度，Wiesmeier et al. (2012)指出用不同的土壤轉換函數計算土壤有機碳存量會造成相當大的偏誤結果。為了求得高度正確和精確的土壤總體密度，每一類型土壤應有特定的轉換函數，而非仰賴一個通用的轉換函數(Harrison and Bocock, 1981)，但在本研究中，用來發展土壤轉換函數的資料庫極為有限，卻必須應用在極大的資料庫上，且採用的土壤轉換函數僅用到土壤有機碳含量和剖面深度兩個參數(Tsui et al., 2013a)，由於表底土的總體密度有所差異，若土壤轉換函數的資料庫以底土樣本數佔較多數，發展出的轉換函數用來計算表土總體密度時就會高估(De Vose et al., 2005)，因而導致土壤有機碳存量也被高估。

3.3 臺灣農地土壤碳之永續管理

目前臺灣每年經由使用化石燃料而釋放的二氧化碳量為 251.04 百萬噸 (相當於每年排放碳 68.47 百萬噸)，換算下來臺灣地區人均碳排放量大約 10.8 噸(經濟部能源局, 2015)，在全球排行居高不下。依 Jien et al. (2010) 及 Tsai et al. (2010) 估算的農地及林地土壤碳存量，臺灣 0-30 公分土壤有機碳總儲存量約 152.5 百萬噸，欲達成巴黎協定每年增加 0.4%的目標，表示臺灣 0-30 公分土壤每年須增加 0.61 百萬噸土壤有機碳；如依本研究估算結果，臺灣 0-30 公分土壤有機碳總儲存量約 164 百萬噸，每年須增加 0.656 百萬噸土壤有機碳方能達成巴黎協定的目標。

全球的甲烷 (CH_4) 排放中超過三分之一是由厭氧狀態下的土壤釋出，除了濕地土壤之外，水稻栽培每年釋出 33~40Tg(CH_4) yr^{-1} 為最大來源，其中 90%來自於熱帶亞洲，主要是中國和印度 (Ciais et al., 2013)；反之，通氣良好的土壤 (如自然的旱田及林地) 可作為大氣中甲烷氧化的匯池 ($\sim 30 \text{ Tg yr}^{-1}$)(Le Mer and Roger, 2001)，水田改變排水系統及併入有機殘體可能降低全球甲烷排放量約 25% (或 7.6 Tg (CH_4) yr^{-1}) (Smith et al., 2008)。臺灣農地有 49.6%面積用以種植水稻，與其他土地利用相較之下，種植水稻有利於減少二氧化碳之排放(陳琦玲等, 2000)，種植水稻搭配施用堆肥及作物殘體也是政府較為推薦的耕作方式。由於臺灣目前尚無農地土壤碳存量變化的監測系統，故不同農業管理方式對土壤碳吸存率(sequestration rate)的影響僅能以少數長期研究先行評估。設於農業試驗所的永續農法水旱田輪作試驗，在施用不同肥料種類 13 年之後，施用堆肥比只施化肥(對照組)的土壤有機碳濃度增加了 3 g kg^{-1} ，施用堆肥搭配化學氮肥則土壤有機碳濃度增加約 5 g kg^{-1} (魏偉勝等, 2015a)。另外，高雄區農業改良場旗南分場以兩種輪作制度進行三種農耕方法的比較，包括慣行農法(化肥+化學農藥)、有機農法(堆肥+生物防治)及折衷農法(堆肥化肥各半+最低量低毒農藥)，連續試驗 20 年後，施用堆肥(有機農法)及施堆肥混合化肥(折衷農法)使土壤有機碳濃度增加 4 g kg^{-1} 及 10 g kg^{-1} (魏偉勝等, 2015b)。根據以上研究資料，若 0-30 公分土壤重量以每公頃 4,000 噸計，則施用有機堆肥每年每公頃約可增加 0.46 噸的土壤有機碳，有機堆肥與化肥混合施用每年每公頃約可增加 0.83 噸的土壤有機碳，經換算後，臺灣農地 0-30 公分土壤每年每公頃可增加 0.74 至 1.33 噸的土壤有機碳。農業試驗所另一個長期試驗研究探討國內常行的耕作制度及三種田間作物殘體處理方式，包括移除(但仍保留根部)、掩埋及焚燒，試驗田完全使用化學肥料，結果發現試驗 20 年後不同作物殘株處理方式未對土壤有機質含量造成顯著差異，但三種殘株處理方式均使土壤有機質含量呈

逐年遞增趨勢，經 20 年試驗後土壤有機質增加 3.7-4.3g kg⁻¹(譚增偉和陳桂暖，2011)，相當於平均每年土壤有機碳吸存量為 0.107-0.125 g kg⁻¹，亦即 0-30 公分土壤每年每公頃可增加 0.428 至 0.5 噸的土壤有機碳。綜上所述，臺灣 0-30 公分土壤在適當的管理系統下，每年土壤碳吸存率 (0.428 to 0.83 t C/ha/yr)可超過巴黎協定的 0.4% 目標。

未經人為管理的林地及草原地下部具有大量生質產量及未受擾動之土壤，天然生態系常比農業生態系儲存更多的土壤碳，也因此，許多研究證實天然生態系轉變為農地時土壤碳可能損失 0.5~ >2 t C ha⁻¹ yr⁻¹，轉變後的生態系在達到新平衡之前，0-30 公分土壤碳總損失接近 30~50%(Ogle et al., 2005)，所以避免天然生態系的轉變與劣化也是減輕全球暖化一種強而有力的方案 (Paustian et al., 2016)。相反地，對農地或劣化土地造林可增加土壤碳儲存，是減緩溫室氣體效應危害有效且經濟可行的方法之一。臺灣自 2002 年開始積極推動「平地景觀造林及綠美化方案」，此方案預計增加平地造林面積 25,100 公頃，並期望未來能夠達到六萬公頃。林映儒等(2011)藉由調查面積 0.5 公頃以上長期果園廢耕地與造林地的碳儲存量，以預估平地造林可能的碳存量變化，結果發現平地造林地之 0-20 公分土壤平均每年每公頃可增加 0.34 噸碳 (平均造林時間為 23 年)，接近全球農地轉林地的土壤平均增加量(0.3 tCha⁻¹yr⁻¹)，也高於巴黎協定的全球平均目標(0.21 t Cha⁻¹yr⁻¹)。由此估之，現有造林政策下，25,100 公頃預期可在地表 0-20 公分土壤增加 19 萬噸土壤有機碳，或在六萬公頃造林願景下增加 47 萬噸的土壤有機碳(林映儒等，2011)。

四、結論

1. 本文為首次基於詳細土壤調查資料庫而推估全臺農地土壤碳存量的研究，利用超過 11 萬筆、涵蓋農地面積約 98 萬公頃的土壤剖面資料。平均而言，農地 0-15 公分土壤碳存量為 2.86 ± 1.43 kg m⁻²，15-30 公分土壤碳存量為 2.57 ± 1.44 kg m⁻²；30-50 公分土壤碳存量為 4.56 ± 2.99kg m⁻²，推估臺灣農地土壤 0-15 公分、0-30 公分及 0-50 公分之有機碳總儲存量分別為 26.6 Tg、50.0 Tg 及 86.7 Tg，0-100 公分土壤有機碳總儲存量約為 107.0-133.7 Tg (1 Tg = 10¹² g)。本研究估算值略高於前人研究，可能是資料庫樣本數不同、土壤有機碳之轉換因子及土壤總體密度的轉換函數所造成。
2. 由少數長期試驗結果估計，在適當的管理系統下，臺灣農地 0-30 公分土壤每年每公頃可增加 0.74 至 1.33 噸的土壤有機碳，每年土壤碳吸存率 0.438 至 0.83 tCha⁻¹；平地造林地之 0-20 公分土壤平均每年(平均造林時間為 23 年)每公頃可增加 0.34 噸碳，均可超過巴黎協定的 0.4% 目標。

參考文獻

- 林映儒、鄭智馨、曾聰堯、王尚禮、郭鴻裕。2011。平地長期林地之土壤性質與有機碳蓄積。臺灣農業化學與食品科學 49(5): 260-274。
- 郭鴻裕、劉滄琴、朱戩良、劉禎祺、江志峰、葉明智。2002。臺灣地區土壤調查資料之建置與未來發展。pp. 1-43。李達源(編)。土壤資訊應用研討會論文集-土壤資訊獲得與處理及應用。國立臺灣大學思亮館國際會議廳，臺北市，2002 年 12 月 12 日。
- 郭鴻裕。2015。臺灣土壤資料庫建置與展望。pp. 38-51。行政院農業委員會農業試驗所 (編)。農業試驗所 120 週年系列活動-臺灣土壤調查 115 年回顧暨農業資料庫應用研討會論

- 文集。行政院農業委員會農業試驗所，臺中市霧峰區，2015 年 8 月 27 日。
- 陳琦玲，林木連，郭鴻裕，江志峰，劉滄琴，朱戩良。2000。土地利用改變對臺灣農地土壤有機碳存量之影響評估。土壤與環境 3(4): 363-378。
- 經濟部能源局。2015。我國燃料燃燒二氧化碳排放統計。
- 趙維良，趙震慶。2008。連續十七年有機農耕法之土壤理化性質的評估。臺灣農學會報 9(3): 270-291。
- 魏偉勝，王鐘和，陳琦玲，鍾仁賜。2015a。在水旱田輪作下不同施肥管理經十三年土壤中碳與氮之累積與轉變。台灣農業化學與食品科學 53(1,2): 9-21。
- 魏偉勝，戴順發，鍾仁賜。2015b。不同之輪作制度與施肥管理經二十年後對土壤化學性質與碳與氮之累積與轉變之影響。台灣農業化學與食品科學 53(1,2): 43-54。
- 譚增偉，陳桂暖。2011。長期不同耕作制度及作物殘體管理對土壤有機質含量的影響。臺灣農業研究 60(2): 115-124。
- Bajtes, N.H. 1996. Total carbon and nitrogen in the soils of world. *European Journal of Soil Science* 47: 151-163.
- Chen, Z.S., and Z.Y. Hseu. 1997. Total organic carbon pool in soils of Taiwan. *Proceedings of the National Science Council, ROC- Part B: Life Science* 21(3): 120-127.
- Ciais, P., C. Sabine, G. Bala, L. Bopp, V. Brovkin, J. Canadell, A. Chhabra, R. DeFries, J. Galloway, M. Heimann, C. Jones, C. Le Quéré, R.B. Myneni, S. Piao and P. Thornton. 2013. Carbon and Other Biogeochemical Cycles. In: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Stocker, T.F., D. Qin, G.-K.Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA
- De Vose, B., M. van Meirvenne, P.Quataert, J.Deckers, and B.Muys. 2005. Predictive quality of pedotransfer functions from estimating bulk density of forest soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69: 500-510.
- Harrison, A.F., and K.L. Bockock. 1981. Estimation of soil bulk-density from loss-on-ignition values. *J. Appl. Ecol.* 18: 919-927.
- Jien, S.H., Z.Y. Hseu, H.Y. Guo, C.C. Tsai, and Z.S. Chen. 2010. Organic carbon storage and management strategies of the rural soils on the basis of Soil Information System in Taiwan. In: Chen Z.S., Agus F. (eds.) *Proceedings of International Workshop on Evaluation and Sustainable Management of Soil Carbon Sequestration in Asian Countries*. Bogor, Indonesia, Sep 28-29, 2010. pp. 125-137.
- Jobbagy, E.G., and R.B. Jackson. 2000. The vertical distribution of organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications* 10: 423-436.
- Kravchenko, A.N. 2003. Influence of Spatial Structure on Accuracy of Interpolation Methods. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67: 1564-1571.
- Lal, R. 2004. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123: 1-22.
- Le Mer, J., and P. Roger. 2001. Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils. *European Journal of Soil Biology* 37: 25-50.
- Minasny, B., Y. Sulaeman, and A.B.McBratney,. 2011. Is soil carbon disappearing? The dynamics of soil organic carbon in Java. *Glob. Change Biol.* 17:1917-1924.
- Nelson, D.W., and L.E. Sommers. 1996. Total carbon and organic matter. In: Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H. (Eds.). *Methods of Soil Analysis. Part III. Chemical Method*. Amer. Soc. Agron. Inc., Madison, Wisconsin, USA, pp. 961-1010.
- Ogle, S.M., F.J. Breidt, and K. Paustian. 2005. Agricultural management impacts on soil organic carbon storage under moist and dry conditions of temperate and tropical regions. *Biogeochemistry* 72: 87-121.
- Pampolino, M.F., E.V. Laureles, H.C.Gines, and R.J.Buresh. 2008. Soil carbon and nitrogen changes in long-term continuous lowland rice cropping. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72:798-807.
- Paustian, K., C.V. Cole, D. Sauerbeck, and N. Sampson. 1998. CO₂ mitigation by agriculture: An

- overview. *Climatic Change* 40: 135-162.
- Paustian, K., J. Lehmann, S. Ogle, D. Reay, G.P. Robertson, and P. Smith. 2016. Climate-smart soils. *Nature* 532: 49-57. (doi:10.1038/nature17174)
- Ping, J.L., and A. Dobermann. 2006. Variation in the precision of soil organic carbon maps due to different laboratory and spatial prediction methods. *Soil Sci.* 171: 374-387.
- Post, W.M., and K.C. Kwon. 2000. Soil carbon sequestration and land-use change: processes and potential. *Glob. Change Biol.* 6: 317-327.
- Schrumpf, M., E.D. Schulze, K. Kaiser, and J. Schumacher. 2011. How accurately can soil organic carbon stocks and stock changes be quantified by soil inventories? *Biogeosciences* 8: 1191-1212.
- Smith, P., D. Martino, Z. Cai, D. Gwary, H. Janzen, P. Kumar, B. McCarl, S. Ogle, F. O'Mara, C. Rice, B. Scholes, O. Sirotenko, M. Howden, T. McAllister, G. Pan, V. Romanenkov, U. Schneider, S. Towprayoon, M. Wattenbach, and J. Smith. 2008. Greenhouse Gas Mitigation in Agriculture. *Philosophical Transactions: Biological Sciences* 363 (1492): 789-813.
- Tsai, C. C., and Z.S. Chen. 2002. The estimation of total soil carbon stock in Taiwan forest soils. pp. 53-62. In: Lin, K.C., Lin, J.C. (eds.) *Proceedings of International Symposium on Forest Carbon Sequestration and Monitoring*. Taiwan Forestry Research Institute. Taipei, Taiwan ROC. Nov. 11-15, 2002
- Tsai, C. C., T. E. Hu, K. C. Lin, and Z.S. Chen. 2009. Estimation of soil organic carbon stocks in plantation forest soils of northern Taiwan. *Taiwan Journal of Forest Science* 24(2): 103-115.
- Tsai, C.C., Z.S. Chen, and C.T. Duh. 2012. Estimation of soil organic carbon stock in subtropical forest region based on digital soil map in Taiwan. *Fifth Global Workshop on Digital Soil Mapping 2012*. University of Sydney, Australia. 10-13 April, 2012.
- Tsai, C.C., Z.S. Chen, Z.Y. Hseu, C.T. Duh, and H.Y. Guo. 2010. Organic carbon storage and management strategies of the forest soils on the Forest Soil Survey Database in Taiwan. pp. 85-102. In: Chen Z.S., Agus F. (eds.) *Proceedings of International Workshop on Evaluation and Sustainable Management of Soil Carbon Sequestration in Asian Countries*. Bogor, Indonesia, Sep 28-29, 2010.
- Tsui, C.C., C.C. Tsai, and Z.S. Chen. 2013b. Soil organic carbon stocks in relation to elevation gradients in volcanic ash soils of Taiwan. *Geoderma* 209-210: 119-127.
- Tsui, C.C., H.Y. Guo, and Z.S. Chen. 2013a. Estimation of soil carbon stock in Taiwan arable soils by using legacy database and digital soil mapping. pp. 311-335. In: M.C.H. Soriano (ed.) *Soil Processes and Current Trends in Quality Assessment*. InTech, ISBN 978-953-51-1029-3, DOI: 10.5772/53211.
- Wiesmeier, M., P. Sporlein, U. Geub, E. Hangen, S. Haug, A. Reischl, B. Schilling, M. von Lutzow, and I. Kogel-Knabner. 2012. Soil organic carbon stocks in southeast Germany (Bavaria) as affected by land use, soil type and sampling depth. *Glob. Change Biol.* 18: 2233-2245.
- Xie, Y.F., T.B. Chen, M. Lei, J. Yang, Q.J. Guo, B. Song, and X.Y. Zhou. 2011. Spatial distribution of soil heavy metal pollution estimated by different interpolation methods: Accuracy and uncertainty analysis. *Chemosphere* 82: 468-476.

Mechanisms of phosphorus uptake by periphyton in paddy soils as affected by calcium and iron

Jiuyu Li and Dean Hesterberg

Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing

Department of Crop and Soil Sciences, NC State University, Raleigh, NC U.S.A.

Rice is the staple food for more than half of the world's population, and phosphorus is a limiting nutrient for rice production. Better management strategies are needed to increase P-use efficiency in rice grown in paddy soils. Recent research suggests that periphyton growing at the surface of paddy soils could have an important role in P cycling. Periphyton can thrive and assimilate P during the early stages of rice growth when more sunlight is available, then die and potentially release P as the canopy cover fills during later stages of growth. Hence, the timing of P cycling in periphyton could be in synchrony with the timing of crop needs. Few studies focused on the effect of periphyton on P cycling in paddy soils. We hypothesize that the plant availability of P from decomposing periphyton will depend on the amount and chemical speciation of P immobilized in the periphyton, and that Ca and Fe contribute to P storage in periphyton. Our results indicated that the P sorption capacity of periphyton increased when amended with Ca^{2+} or Fe^{2+} . The amount of P sorbed correlated linearly with the sorbed contents of Ca^{2+} or Fe^{2+} . In addition to the potential for biotic adsorption, photosynthesis increased the pH of periphyton to $\text{pH} \geq 8.0$, which would promote abiotic precipitation of P as Ca-phosphates. Photosynthesis also promoted oxidation of Fe^{2+} to Fe^{3+} , with precipitation of Fe (hydr)oxides that can adsorb HPO_4^- . Our initial P K-edge XANES spectra indicated a strong preference of phosphate for Fe over Ca in periphyton samples amended with P, Ca, and Fe. The fundamental knowledge produced in this study will aid in developing management practices for paddy soils that could improve P use efficiency by rice via storage in periphyton.