

# 碳氮素源對線蟲捕捉性真菌捕捉能力之影響

林玠誼<sup>1</sup> 蔡東纂<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 台中市 國立中興大學植物病理學系

<sup>2</sup> 通訊作者，電子郵件：ttsay@mail.nchu.edu.tw；傳真：+886-4-22876712

接受日期：中華民國 93 年 10 月 25 日

## 摘要

林玠誼、蔡東纂. 2004. 碳氮素源對線蟲捕捉性真菌捕捉能力之探討. 植病會刊 13: 309-316.

自本省各地不同寄主及土壤質地作物區採集作物根圈土壤之 61 個樣本，利用土壤灑佈法分離不完全菌絲網線蟲捕捉性真菌，測定採集土壤的 pH 值、有機質、土壤質地，以探討線蟲捕捉性真菌之存在與其相關性。樣本分離到線蟲捕捉性真菌的比率為 68.85%，共 11 種線蟲捕捉性真菌，且其中 68.63% 為網形成菌 (net-forming fungi)，其中又以 *Monacrosporium eudermata* 的 25.49% 分離率為最高。當土壤有機質含量高於 4% 時即全數分離到線蟲捕捉性真菌，土壤 pH 值介於 2-4 及 5-7，分離線蟲捕捉性真菌比率為 89.47%、69.57%，較其他範圍值分離率高，但整體與線蟲捕捉性真菌的存在無明顯相關性。五種線蟲捕捉性真菌 *Arthrobotrys cladodes*、*A. musiformis*、*Dactylaria borchopaga*、*M. eudermata* 與 *M. ellipsosporium* 最適生長溫度為 28°C，皆可在 pH 值 5-9 下生長，其中網形成菌生長速度最快，以查派克培養基 (Czapek's medium) 作為基礎培養基，調整碳素源濃度為 0.5%、1% 及 3%；氮素源濃度為 0.2%、0.5% 及 1%，當氮素源濃度為 1% 時，可抑制 5 種線蟲捕捉性真菌生長。*M. eudermata* 培養在 0.5% maltose 與 0.2% NaNO<sub>3</sub> 條件下對於葉芽線蟲 (*Aphelenchoides besseyi*) 具有最好的捕捉率 (50%)，當碳素源提高到 3% 或不添加任何碳氮素源會降低捕捉線蟲能力。溫室試驗以有機添加物與豐力富高鈣即溶奶粉混合調整其碳氮比為 2.5，作為 *M. eudermata* 養分來源，結果顯示薤菜植株經大豆粕 + 奶粉 + *M. eudermata* 混合物之處理能顯著降低南方根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita*) 的侵入，並且促進地上部的生長，比只接種南方根瘤線蟲之薤菜植株乾重增加 90.9%。

關鍵詞：線蟲捕捉性真菌、南方根瘤線蟲

## 緒言

線蟲寄生真菌廣泛地分布在世界各地，包括土壤、堆肥、枯枝落葉，尤其是有機質含量比較高的環境，一般最適生長溫度範圍為 20-25°C，文獻上記載指出菌絲生長與產生捕捉線蟲構造所需的養分不同，如果提供 *A. oligospora*、*A. musiformis* 這兩種線蟲捕捉性真菌木糖 (xylose)、葡萄糖 (glucose)、果糖 (fructose)、糊精 (dextrin)、棉子糖 (raffinose) 時可增強其捕捉性；而使用麥芽糖 (maltose)、蔗糖 (sucrose)、纖維二糖 (cellulose) 時則捕捉性稍差；若用阿拉伯糖 (arabinose)、水梨糖 (sorbitol)、半乳糖 (galactose) 則捕捉性極低<sup>(6)</sup>，此外增加碳素源濃度會降低捕捉線蟲的能力<sup>(9)</sup>。線蟲捕捉性真菌被認為在土壤中競爭能力較低，不容易快速在土壤中建立族群，Dobbs & Hinson (1953) 證實多數真菌孢子在土壤中不會發芽，或是孢子產生的發芽管被水解掉，呈現靜菌現象<sup>(12)</sup>。Papavizas & Lewis (1981) 指出要成功的引入真菌作為生物防治劑，必須要添加養分，而且添加的養分不同會影響線蟲捕捉性真菌在土壤中的生長及感染線蟲的能力<sup>(22)</sup>。本研究將針對不同作物根圈土壤的質地、pH 值、有機質與線

蟲捕捉性真菌分佈的關聯性進行探討進一步了解線蟲捕捉性真菌在土壤中的生態條件並找尋其最適合的營養條件。實驗設計中利用不同種類及濃度碳氮素源對台灣地區分離的 5 種線蟲捕捉性真菌生長及捕捉能力的影響，探討線蟲捕捉性真菌最佳捕捉植物寄生性線蟲的營養條件，進而找尋適合的有機添加物作為線蟲捕捉性真菌的營養來源，作為研發最廣泛發生之南方根瘤線蟲病害之生物防治之參考。

## 材料與方法

### 供試田間土壤樣本採集及其定性

自全省各地採集作物根圈土壤至少 500 公克 (gram)，將採集的土壤分為兩部分；第一部分在室溫下將採集土靜置風乾，用以測量各地採集土的 pH 值、有機質含量和質地；另一部分則進行線蟲捕捉性真菌的分離。

土壤 pH 值測試時取 10 公克土放置於指形管中，加入 10 ml 蒸餾水，均勻攪拌後放置 30 分鐘，放置期間於 10 分

鐘及 20 分鐘各攪拌一次，欲測量前再攪拌一次，隨即插入電極(SUNTEX sp-701)測定 pH 值<sup>(7)</sup>。

測試質地時，秤取 40 g 風乾土置於 450 ml 三角瓶中，加入 25 ml 蒸餾水及 100 ml 偏磷酸鈉溶液(Sodium hexametaphosphate, HMP solution, 50 g / L)，靜置 15 分鐘，將處理 HMP 的土壤懸浮液洗入攪拌杯中，以電動攪拌器攪拌 5 分鐘，然後洗入 1000 ml 量筒中，加水至 1000 ml，以攪拌器上下打 30 次，於攪棒取出時開始計算時間，在 30 秒時放入比重計，於 40 秒時記取讀數(t<sub>40s</sub>)。取出比重計，七小時後再測一次，量取讀數(t<sub>7hr</sub>)。另取 100 ml 偏磷酸鈉溶液，傾入 1000 ml 量筒中，加水至 1000 ml，測量此溶液溫度及比重計讀值作為對照<sup>(6)</sup>。

根據 Jackson (1958) 之方法來測定土壤有機質，若耗硫酸亞鐵液少於 6 ml 時，改秤 1 g 土重測之，計算結果須予以加倍。以同方法行空白(無土)試驗，於每批樣品滴定之初及終了時分別行之<sup>(17)</sup>。有機質 % =  $10 \times (S - T) / S \times 0.3418$ ，其中 S = 空白滴定時所耗之硫酸亞鐵之 ml 數，而 T = 土樣滴定時所耗之硫酸亞鐵之 ml 數。

### 線蟲捕捉性真菌的分離與鑑定

選用 0.1 % 玉米粉培養基(cornmeal agar, CMA) 並添加 100-200 ppm Streptomycin，利用土壤灑佈法<sup>(5)</sup> 分離線蟲捕捉性真菌，2 天後，加入線蟲懸浮液 500 隻 / 500  $\mu$ l，持續觀察 2 星期，視是否有線蟲捕捉性真菌產生，參照 Cooke 和 Godfrey 二氏所製作的檢索表，依照線蟲捕捉菌孢子型態、分生孢子柄、捕捉線蟲構造的不同，予以初步分類、鑑定<sup>(10)</sup>。並挑取單一孢子進行增量培養，分離之所有菌株於常溫下在細砂(沙土經 2 mm 孔目網篩過濾，秤取 30 g 完全烘乾的細砂加入 7.5 ml 蒸餾水，使其含水量約 25 %，經間歇消毒 3 次) 中保存。

### 線蟲捕捉性真菌的培養條件試驗

針對溫度、pH 值、碳素源、氮素源四項進行測試以期找出線蟲捕捉性真菌最適合生長的條件，可作為後續線蟲捕捉性真菌捕捉率測試的參考。移出細砂中保存的 *Monacrosporium eudermata*、*M. ellipsosporum*、*Arthrobotrys cladodes*、*A. musiformis*、*Dactylaria brochopaga* 等 5 種線蟲捕捉性真菌於 CMA 中增量培養，利用直徑 6 mm 之 2 號打孔器擷取外圍菌絲塊，接種於 pH 7.0 之 CMA 中央，分別將培養皿置於 8°C、12°C、16°C、20°C、24°C、28°C、32°C、36°C 定溫箱，無光照情況下，第 4 天記錄菌落直徑大小，每處理 3 重複。

pH 值測試則將菌絲培養於酸鹼值 5、6、7、8、9 的 CMA，接種直徑 6 mm 外圍菌絲塊於 CMA 中央，再將培養皿置於 28°C，無光照情況下，第 4 天記錄菌落直徑大小，每處理 3 重複。

測試最佳的碳素源以查派克培養基(Czapek's medium) 之配方<sup>(19)</sup> 作為基礎培養基，改變配方中的碳素源來測試蔗糖(sucrose)、葡萄糖(glucose)、乳糖(lactose)、半乳糖(galactose)、木糖(xylose)、麥芽糖(maltose)、甘露純糖(mannitol)、可溶性澱粉(soluble starch)、蔗糖(saccharose) 等 9 種，碳素源用量皆以基礎培養基配方中 30 g 蔗糖(3 %) 為標準，培養基 pH 值調整為 7.0，經高壓殺菌釜消毒後，倒成平板，接種線蟲捕捉性真菌直徑 6 mm 外圍菌絲

塊於培養皿中央，第 4 天記錄菌落直徑大小，每個處理 3 重複。此外，調整碳素源濃度為 1 %、0.5 % 方法如上述。

測試最佳的氮素源以查派克培養基(Czapek's medium) 作為基礎培養基，供試氮素源包括硝酸鈉(NaNO<sub>3</sub>)、磷酸氫二銨((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>)、硝酸銨(NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>)、磷酸二氫銨(NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)、硫酸銨((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>)、氯化銨(NH<sub>4</sub>Cl)、尿素 <CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(urea)> 等 7 種，其用量以基礎培養基配方中，2 g 硝酸鈉的氮素源用量(0.2 %) 為標準，培養基 pH 值調整為 7.0，經高壓殺菌釜消毒後，倒成平板，接種線蟲捕捉性真菌直徑 6 mm 外圍菌絲塊於培養皿中央，第 4 天記錄菌落直徑大小，每個處理 3 重複。此外，調整氮素源濃度為 0.5 %、1 % 方法如上述。

### 線蟲捕捉性真菌在不同環境下對線蟲捕捉率之測定

為了大量培養線蟲捕捉性真菌，首先必須找出線蟲捕捉性真菌最適生長的碳氮素來源，並深入探討不同種類及濃度的碳氮素源是否會影響線蟲捕捉性真菌捕捉率，找出最適線蟲捕捉率的培養基後，測試不同溫度、pH 值對線蟲捕捉率是否也有影響。先將 5 種線蟲捕捉性真菌於細砂培養基中移至 CMA 上進行增量培養，一星期後接種直徑 6 mm 外圍菌絲塊至上述 55 mm 塑膠培養皿不同濃度碳、氮素源培養基中，待菌絲長至 33 mm，分別添加 100 隻 *A. besseyi*、*M. incognita*、*Rhabditis* spp.，置於 28°C 定溫箱，三天後計算被捕捉的線蟲數目，並換算成百分比，每處理 3 重複。

於線蟲捕捉性真菌 *M. eudermata* 最佳捕捉率的培養基(含 0.5 % maltose & 0.2 % NaNO<sub>3</sub>) 中，調整 pH 值為 7.0，待菌絲長至 33 mm，分別加入 100 隻 *A. besseyi*，置於 16°C、20°C、24°C、28°C、32°C 定溫箱，無光照情況下，三天後計算被捕捉的線蟲數目，並換算成百分比，每處理 3 重複。

於線蟲捕捉性真菌 *M. eudermata* 最佳捕捉率的培養基(含 0.5 % maltose & 0.2 % NaNO<sub>3</sub>) 中，調整培養基 pH 值為 5、6、7、8、9，待菌絲長至 33 mm，分別加入 100 隻 *A. besseyi*，置於 28°C 定溫箱，無光照情況下，三天後計算被捕捉的線蟲數目，並換算成百分比，每處理 3 重複。

### 線蟲捕捉性真菌對薤菜感染南方根瘤線蟲之防護作用

準備 150 ml 培養液(含 0.5 % maltose & 0.2 % NaNO<sub>3</sub>)，經高壓殺菌釜消毒後，接種 20 個直徑 6 mm *M. eudermata* 在 CMA 上培養一週的外圍菌絲塊，在 28°C 定溫箱中 110 rpm 震盪培養一星期，經抽氣過濾後，秤取線蟲捕捉性真菌的濕重，調整真菌菌絲濕重為 20 mg 作為溫室試驗接種源。

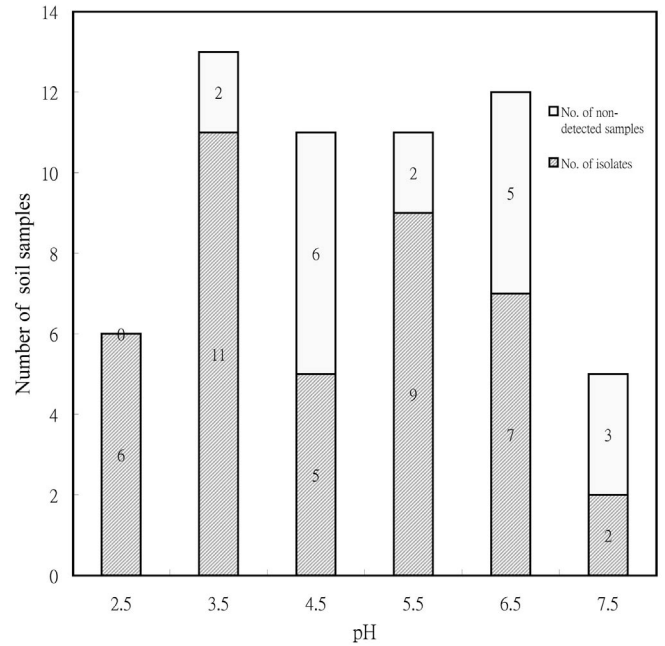
選擇三種油粕類有機添加物包括大豆粕、菜籽粕、花生粕(福壽實業股份有限公司沙鹿廠)，醋蜜(光億農化工廠有限公司)，0.5 % maltose (Sigma 公司) 與 0.2 % NaNO<sub>3</sub> (林純藥工業株式會社)，以及豐力富高鈣即溶奶粉(大勝化學工業股份有限公司)(表三)，於體積 500 ml 土壤(泥碳土：沙子(V/V) = 1 : 1) 中植入一星期的薤菜植株幼苗，定植一週後，分別將大豆粕、菜籽粕、花生粕，醋蜜與豐力富高鈣即溶奶粉混合，調整其碳氮比為 2.5，並以添加 0.5 % maltose 與 0.2 % NaNO<sub>3</sub> 的處理作為正對照組，配製成 25 ml 之添加物溶液倒入 500 ml 土壤，同時添加內含菌絲

濕重 20 mg 之 5 ml 菌絲懸浮液，經一週後再接種 400 隻南方根瘤線蟲，接種南方根瘤線蟲一個月後，計算薺菜地下部根瘤指數、地上部乾重以及 100 g 土壤中二齡幼蟲數目，每個處理 5 重複。對照組共有 5 組，分別為單獨施用有機添加物、單獨添加線蟲捕捉性真菌、施用 800 倍殺蟲劑加保扶 (Carbofuran, 40.64 % 水懸劑)、只接種南方根瘤線蟲及不添加任何有機添加物與線蟲捕捉性真菌等，此試驗共重複 3 次。

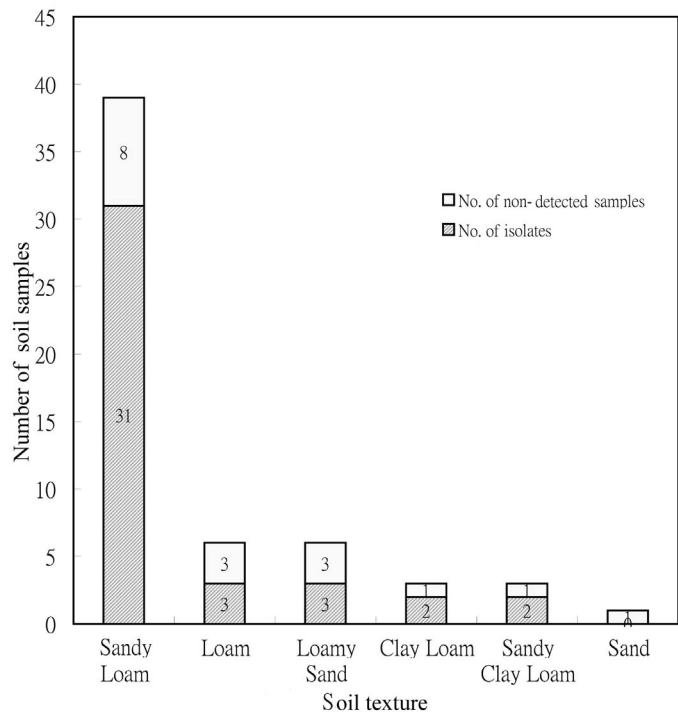
## 結果

### 供試田間土壤樣本採集及其定性

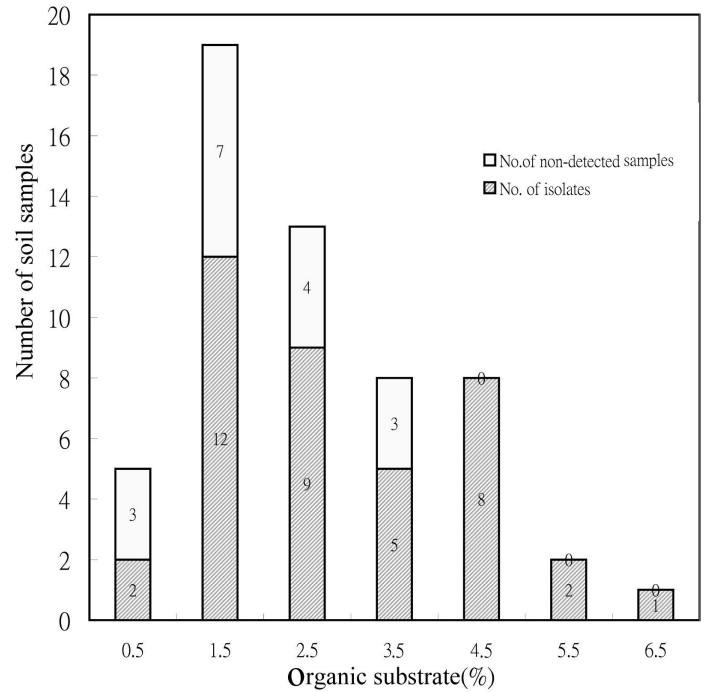
自全省各地採集 61 個作物根圈土壤樣本，其中包括 36 個採自多年生作物農地及 25 個自一年生作物農地。經測試，根圈土壤的 pH 值、有機質、質地，結果顯示採集樣本之 pH 值在 2.23-7.31 之間，其中以 3-4 pH 值的土壤為最多，佔 21.31 %。當 pH 值介於 2-4、5-7，分離到線蟲捕捉性真菌的比率為 89.47 %、69.57 %，較其它範圍值之分離率高 (圖一 a)。採集樣本包括了砂質壤土、壤土、壤砂土、粉質壤土、砂質粉壤土、砂土等 6 種不同質地的土壤，以砂質壤土的採集點最多佔 39 個。除砂土外，其他 5 種質地土壤亦分離到線蟲捕捉性真菌，砂質壤土分離到線蟲捕捉性真菌比率最高，達 79.49 % (31 / 39) (圖一 b)。採集樣本有機質含量介於 0.46-6.6 %，有機質含量介於 1-3 % 的採集點最多，達 55 %。土壤有機質含量超過 4 % 之採集樣本則皆可以分離得到線蟲捕捉性真菌 (圖一 c)。



圖一 a、不同 pH 值土壤分離之線蟲捕捉性真菌株數  
Fig. 1a. The number of nematode-trapping fungi isolated under different pH value soils



圖一 b、不同質地土壤分離之線蟲捕捉性真菌株數  
Fig. 1b. The number of nematode-trapping fungi isolated under different textures of soil



圖一 c、不同有機質含量 (%) 分離之線蟲捕捉性真菌株數  
Fig. 1c. The number of nematode-trapping fungi isolated under different percentage of organic substrates of soils

### 線蟲捕捉性真菌的分離與鑑定

這些樣本中分離到 11 種，51 個線蟲捕捉性真菌的分離株(表一)，其中 42 個採集地點分離到線蟲捕捉性真菌，線蟲捕捉性真菌比率為 68.85 % (42/61)，以 *Monacrosporium eudermata* 之分離比率最高(25.49%)。由 11 種中挑選出現頻率最高的 5 種線蟲捕捉性真菌 *M. eudermata* (C-26)、*M. ellipsosporum* (C-45)、*Arthrobotrys cladodes* (ER-4)、*Dactylaria brochopaga* (C-49) 和 *A. musiformis* (SJ) 進行後段試驗研究的材料。

### 線蟲捕捉性真菌的培養條件試驗

在不同溫度下測試 5 種線蟲捕捉性真菌菌落生長的直徑大小，結果顯示最適生長溫度為 28°C (圖二)，而 5 種線蟲捕捉性真菌在 pH 值介於 5-9 之間菌落生長並無明顯差異，但網形成菌 *M. eudermata*、*A. musiformis*、*A. cladodes* 菌落生長速度明顯比黏球形菌 *M. ellipsosporum* 及環形成菌 *D. brochopaga* 快。在供試的 9 種碳素源利用上，添加雙糖 lactose 與單糖 galactose 生長最為緩慢，其次為單糖 xylose，而添加 3% 單糖 xylose 會抑制 *M. ellipsosporum* 及 *D. brochopaga* 的生長，培養在只有添加 1% 氮素源

表一、台灣地區分離到之線蟲捕捉性真菌及其出現頻率  
Table 1. The occurrence rate of nematode-trapping fungi isolated in Taiwan

Nematode-trapping fungi	No. of sample	Percentage (%)
<i>Arthrobotrys cladodes</i>	11	21.57
<i>A. conoides</i>	1	1.96
<i>A. dactyloides</i>	1	1.96
<i>A. musiformis</i>	5	9.80
<i>A. oligospora</i>	1	1.96
<i>Dactylaria brochopaga</i>	2	3.92
<i>D. haptotyla</i>	2	3.92
<i>D. psychrophila</i>	1	1.96
<i>Dactylella megalospora</i>	3	5.88
<i>Monacrosporium ellipsosporum</i>	11	21.57
<i>M. eudermata</i>	13	25.49
Total	51	100.00

表二、7 種不同氮素源對 5 種線蟲捕捉性真菌產生捕捉構造之影響

Table 2. Effects of seven nitrogen sources on the forming of nematode-trapping structures of five nematode-trapping fungi

Number of isolate	NaNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> Cl	Urea(CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> )	control
C-26 <sup>1</sup>	— <sup>2</sup>	—	—	—	—	—	—	+ <sup>3</sup>
EG-4 <sup>1</sup>	+ <sup>3</sup>	—	—	+ <sup>3</sup>	+ <sup>3</sup>	—	+ <sup>3</sup>	+ <sup>3</sup>
SJ <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	+ <sup>4</sup>	+ <sup>3</sup>
C-45 <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	—	+ <sup>5</sup>
C-49 <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	—	+ <sup>6</sup>

<sup>1</sup> C-26, *Monacrosporium eudermata* ; EG-4, *Arthrobotrys cladodes* ; SJ, *A. musiformis* ; C-45, *M. ellisporum* ; C-49, *Dactylaria brochopaga*

<sup>2</sup> without nematode-trapping structure

<sup>3</sup> adhesive nets

<sup>4</sup> adhesive nets ,and showed no nematode-trapping ability

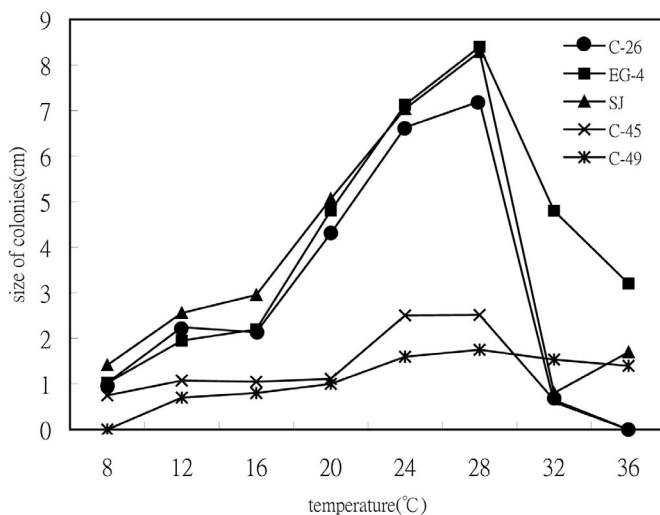
<sup>5</sup> adhesive knobs

<sup>6</sup> constricting rings

時，5 種線蟲捕捉性真菌生長皆會受到抑制。在供試的 7 種氮素源利用上，以固定碳素源為 1% 雙糖 sucrose，搭配不同種類的之 0.2% 氮為例，發現氮素源為 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> 或 urea 時，5 種線蟲捕捉性真菌生長較為遲緩。

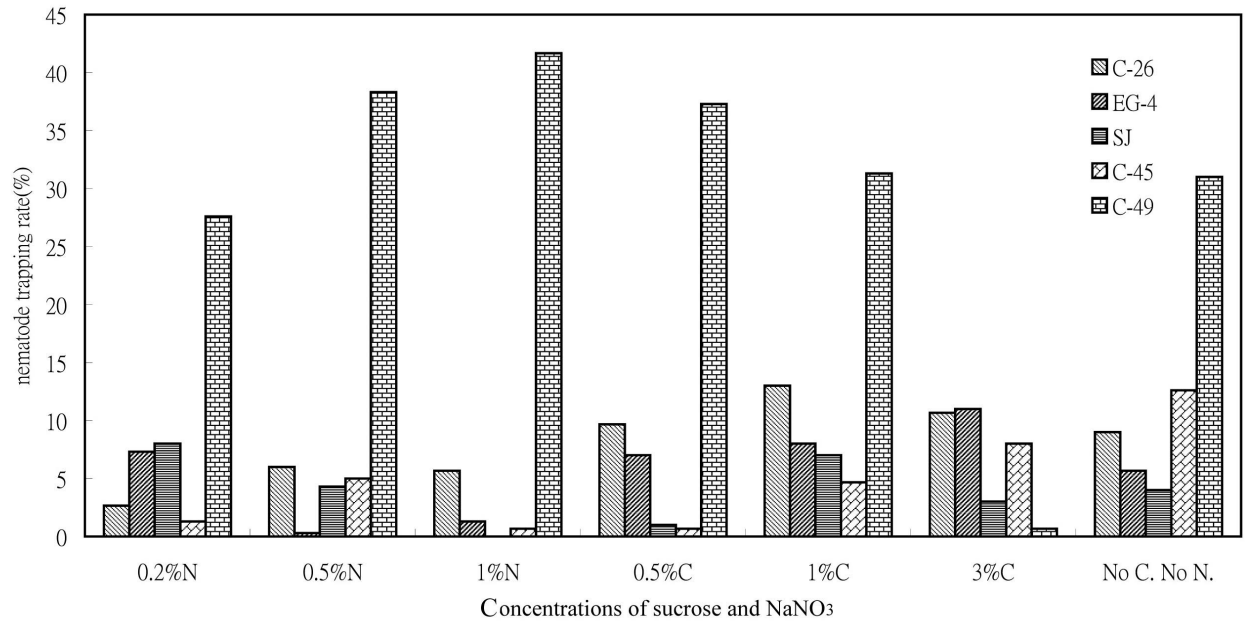
### 線蟲捕捉性真菌在不同環境下對線蟲捕捉率之測定

*M. eudermata* 在固定 0.2% NaNO<sub>3</sub> 為氮素源時，添加 0.5% maltose 有最好捕捉 *Aphelenchoides besseyi* 的能力，達 50%，以 0.5% carbon & 0.2% NaNO<sub>3</sub> 為例，線蟲捕捉性真菌 *M. eudermata* 捕捉腐生性線蟲 *Rhabditis* spp. 百分率皆在 10% 以下。在培養基只添加單一濃度的雙糖 Sucrose 或 NaNO<sub>3</sub> 時，*A. musiformis* 無法在 1% NaNO<sub>3</sub> 環境下捕捉 *A. besseyi*，而 *D. brochopaga* 捕捉效果最好，其在 1% NaNO<sub>3</sub> 培養條件下捕捉率可達 41.67% (圖三)。5 種線蟲捕捉性真菌在培養基固定為 3% 雙糖 sucrose 時，分別添加 7 種不同氮素源濃度，多數無法捕捉 *A. besseyi*，只有 *A. cladodes* 與 *A. musiformis* 可以觀察到少許捕捉構造的產



圖二、線蟲捕捉性真菌在不同溫度下之生長速率

Fig. 2. The growth rate of five nematode-trapping fungi under different temperature C-26, *Monacrosporium eudermata* ; EG-4, *Arthrobotrys cladodes* ; SJ, *A. musiformis* ; C-45, *M. ellisporum* ; C-49, *Dactylaria brochopaga*



圖三、線蟲捕捉性真菌在不同濃度碳氮素源下對於葉芽線蟲的捕捉率

Fig. 3. Effects of different concentrations of sucrose and  $\text{NaNO}_3$  on the trapping ability of five nematode-trapping fungi to *Aphelenchoides besseyi*; C-26, *Monacrosporium eudermata*; EG-4, *Arthrobotrys cladodes*; SJ, *A. musiformis*; C-45, *M. ellisiosporum*; C-49, *Dactylaria brochopaga*

表三、供試之五種有機添加物碳素源及氮素源的含量百分比

Table 3. The percentages of the carbon and nitrogen sources of five organic amendments in the test

Nutrient	Carbon	Nitrogen	C / N ratio
Soybeans meal	93.0%	6.00%	15.50
Rapeseed meal	48.4%	5.00%	9.68
Peanut meal	52.4%	5.50%	9.53
Treacle	43.5%	1.25%	34.80
milk powder	35.7%	26.50%	1.35

生，但不一定有線蟲被捕捉(表二)。

溫度結果顯示 *M. eudermata* 放置在溫度為 24、28°C 時捕捉葉芽線蟲百分率分別為 2、31.5%，而在 16、20、32°C 並無法捕捉葉芽線蟲，而 pH 值結果顯示 *M. eudermata* 培養在 pH 5 時無法捕捉葉芽線蟲，培養在 pH 值 6、7、8、9 的培養基則具捕捉葉芽線蟲能力，以培養基 pH 值為 7 時捕捉葉芽線蟲的效果最好，達 31.5%。

#### 線蟲捕捉性真菌對薤菜感染南方根瘤線蟲之防護作用

處理中施用加保伏，花生粕+奶粉，大豆粕+奶粉+*M. eudermata* 三種處理與對照組只接種南方根瘤線蟲的卵塊數相比，有明顯的差異 ( $p \leq 0.05$ )；薤菜植株若處理大豆粕+奶粉、大豆粕+奶粉+*M. eudermata*、花生粕+奶粉+*M. eudermata* 與不做任何處理的健康薤菜植株對照組相比則有明顯促進地上部生長的效果；處理 0.5% maltose + 0.2%  $\text{NaNO}_3$  + 奶粉及菜籽粕+奶粉+*M. eudermata* 與不做任何處理的健康薤菜植株對照組相比有明顯抑制根系生長的情況；除了處理菜籽粕+奶粉，糖蜜+奶粉外，其

他處理與只接種南方根瘤線蟲對照組相比皆明顯抑制土壤中二齡幼蟲數目(表四)。

## 討 論

分析自全省各地採集的作物根圈土壤，發現 pH 值高低與線蟲捕捉性真菌分離率無明顯相關性，這表示線蟲捕捉性真菌能夠廣泛生存於不同 pH 值環境，此論點也可由本研究中所測的不同 pH 值對於 5 種線蟲捕捉性真菌菌落大小影響來佐證，pH 值在 5-9 之間，5 種線蟲捕捉性真菌皆可以生長。採集點之中以砂質壤土的採集點最多，砂質壤土中線蟲捕捉性真菌出現率為 79.49%，這也許與其食物來源的線蟲喜好鬆軟、保水力好、偏砂質土壤有關，而其他土壤質地採樣數不夠多，這個假設有待更多的研究證實；本研究中測得土壤有機質高於 4%，共 11 個採樣點，都可分離到線蟲捕捉性真菌，其中 10 個點為多年生作物農地，採集土表有落葉及腐植質的存在，推測應該是造成土壤有機質較高的原因，另一個採集點是番茄田，採集土表發現有肥料殘留，推測應該是農民剛施肥不久造成土壤有機質增高的原因，Mcsorley & Gallaher (1995) 指出維持有機添加物或堆肥一段時間，可刺激線蟲拮抗微生物的活性增加<sup>(21)</sup>。

Cooke (1964) 將線蟲捕捉性真菌依產生捕捉構造之能力分成兩類，第一類競爭性腐生能力 (Competitive Saprophytic Ability, CSA) 較強，對環境壓力的適應性高，捕捉線蟲構造為黏著網；另一類則產生收縮環及黏著球，競爭腐生能力較低，對不良環境敏感，但易產生捕捉構造<sup>(10)</sup>，目前調查所得結果顯示分離到的線蟲捕捉性真菌以 *Monacrosporium eudermata*、*Arthrobotrys cladodes*、*Monacrosporium ellisiosporum* 出現的頻率最高，其中 *M.*

表四、線蟲捕捉性真菌在不同之添加有機質處理中對薤菜感染南方根瘤線蟲之防護作用

Table 4. Effects of nematode-trapping fungi with different organic amendments on the control of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in water spinach pot tests

Nutrient	No. of galls	Dry shoot weight of plant (g)	Dry root weight of plant (g)	No. of juvenile of root-knot nematode
Carbonfuran + milk powder	5.8 a	1.178 a	0.448 abc	0.2 a
Soybeans meal + milk powder	11.0 ab	3.505 d	0.528 c	1.0 a
Rapeseed meal + milk powder	16.0 ab	2.723 bc	0.350 abc	20.3 bcd
Peanut meal + milk powder	6.0 a	2.704 bc	0.322 abc	14.8 abc
Treacle + milk powder	22.5 ab	2.360 b	0.434 abc	27.8 cd
0.5% maltose & 0.2% NaNO <sub>3</sub> + milk powder	9.0 ab	1.224 a	0.255 a	3.8 a
Soybeans meal + milk powder + C-26 <sup>1</sup>	7.0 a	2.957 c	0.261 ab	2.5 a
Rapeseed meal + milk powder + C-26 <sup>1</sup>	12.8 ab	1.638 a	0.240 a	2.6 a
Peanut meal + milk powder + C-26 <sup>1</sup>	17.3 ab	3.483 d	0.526 c	6.0 ab
Treacle + milk powder + C-26 <sup>1</sup>	19.2 ab	1.705 a	0.276 abc	3.0 a
0.5% maltose & 0.2% NaNO <sub>3</sub> + milk powder + C-26 <sup>1</sup>	20.8 ab	1.649 a	0.457 abc	2.8 a
C-26 <sup>1</sup>	19.4 ab	1.549 a	0.510 bc	1.2 a
only <i>Meloidogyne incognita</i>	24.6 b	1.470 a	0.799 d	35.6 d
check	—	1.511 a	0.903 d	—

<sup>1</sup> C-26, *Monacrosporium eudermata*<sup>2</sup> Means followed by the same letter within columns are not significantly different according to Duncan's multiple test ( $p = 0.05$ )

*eudermata* 與 *A. cladodes* 為網形成菌，*M. elliposporum* 為黏球形菌。與其所提線蟲捕捉性真菌出現率高，與 CSA 較強有關的觀點大致符合。在愛爾蘭的調查中 *D. bemicodes*、*D. mammillata* 及 *M. elliposporum* 出現頻率最高，顯示台灣本土的線蟲捕捉性真菌與溫帶出現的線蟲捕捉性真菌頻率具高度區域性分布差異<sup>(15)</sup>。本篇結果與吳氏 (1997) 在台灣所調查結果相似，線蟲捕捉性真菌出現頻率最高皆為 *M. eudermata*<sup>(2)</sup>。

研究中 5 種線蟲捕捉性真菌生長溫度介於 8-36°C，當溫度介於 -28°C 生長速度較快，培養四天後菌落直徑可達 7 cm 以上。1964 年，朱氏曾報導指出網形成菌 *A. oligospora* 培養於馬鈴薯培養基，分別置於 7 種不同溫度中，發現最適生長溫度為 27°C<sup>(1)</sup>，與本篇的結果相似，因此推測線蟲捕捉性真菌中的網形成菌其最適生長溫度介於 24-28°C。Blackburn & Hayes 指出以查派克培養基培養網形成菌 *A. oligospora*，其生長速度比環形成菌 *M. candida* 快，與本文所測試的 3 種網形成菌 *M. eudermata*、*A. musiformis*、*A. cladodes* 生長速度比具黏著球的 *M. elliposporum* 與具收縮環的 *Dactylaria brochopaga* 快的結果相符合<sup>(8)</sup>。

有關線蟲捕捉性真菌用來作為生物防治的例子很多，但無成功實例出現，原因可能是施用時只將有活性的菌體與大量的有機添加物混合混拌到田間，沒有考慮線蟲捕捉性真菌生長及行捕捉時的養分需求<sup>(13)</sup>。若欲以線蟲捕捉性真菌作為生物防治的策略，真菌必須在土壤中建立族群，才有機會成功。Hayes & Blackburn 提出線蟲捕捉性真菌生長與捕捉時所需的養分需求不同<sup>(16)</sup>，且碳素源濃度對於線蟲捕捉性真菌捕捉能力也有影響，當土壤中蔗糖分解的量到達使真菌停止捕捉線蟲的濃度時，持續添加蔗糖反而會增加土壤中線蟲的族群<sup>(9)</sup>，本研究結果顯示當 *M. eudermata* 培養在只添加 3% sucrose 培養基時捕捉葉芽線

蟲百分率為 10.67%，而培養在含有 3% 碳素源與 3 種不同濃度 NaNO<sub>3</sub> 的培養基下，皆無法產生捕捉線蟲的構造。除了添加乳糖或半乳糖作為碳素源外，當其他種類碳素源添加濃度降低到 0.5%、1% 時皆可捕捉 *A. besseyi*；在培養基調整為 0.5% 麥芽糖和 0.2% NaNO<sub>3</sub> 時，*M. eudermata* 有最好的線蟲捕捉率 (50.3%)，如果培養基中只添加微量元素 (不添加任何碳氮素源) 也可捕捉線蟲達 9%，由此可推測線蟲捕捉性真菌在營養缺乏情況下可以捕捉線蟲，如果養分太多則無法產生捕捉構造，調整適當的養分種類及濃度則可增加線蟲捕捉性真菌的捕捉率。在 5 種線蟲捕捉性真菌中，由於網形成菌生長速度較快，而三種網形成菌又以 *M. eudermata* 在各種培養基下對於捕捉葉芽線蟲的能力較高，故本研究選擇在田間的分佈最為普遍的 *M. eudermata* 作為生物防治菌。

線蟲捕捉性真菌捕捉率測試中發現供試的 5 種線蟲捕捉性真菌捕捉南方根瘤線蟲效率不佳，其中以 *Dactylaria brochopaga* 培養在 1% xylose & 0.2% NaNO<sub>3</sub> 下有 17% 捕捉南方根瘤線蟲的效果最好；*Monacrosporium eudermata* 捕捉腐生性線蟲 *Rhabditis* spp. 的百分率也都在 10% 以下，這與 Jaffee 報導指出 *Arthrobotrys haptotyla* 與 *A. thaumasia* 與包囊線蟲 (*Heterodera schachtii*) 相較下較喜捕捉爪哇根瘤線蟲 (*Meloidogyne javanica*)，有類似寄生偏好的情況，而 *A. dactyloides* 則無此偏好情況，捕捉爪哇根瘤線蟲或包囊線蟲的百分率較相近<sup>(18)</sup>。

利用大豆粕+奶粉+*M. eudermata* 的處理與只處理加保伏可以有效降低薤菜根系中卵塊的數目，並且比只添加大豆粕+奶粉的處理效果顯著，又可以增加薤菜地上部重量。薤菜根系在各種處理下皆受到抑制的原因可能是處理的有機添加物尚未經過發酵，曾有報導指出當添加的有機添加物 C/N ratio 小於 10 對於植物有毒害<sup>(20)</sup>，這可能是造成實驗中薤菜根系受損的原因。Duponnois (2001) 指出添

加 6 種樹葉的粉末到含有根瘤線蟲 (*M. mayaguensis*) 的番茄盆鉢中會抑制番茄地上部的生長，此種抑制植物生長的現象在添加線蟲捕捉性真菌 *Arthrobotrys oligospora* 後消失，亦佐證過高的有機質會影響植物生長。此外，試驗過程中溫室溫度範圍介於 28-38°C，由之前的試驗發現線蟲捕捉性真菌 *M. eudermata* 在溫度超過 32°C 的無法捕捉線蟲，而且線蟲捕捉性真菌捕捉線蟲是一種物理的方式，產生捕捉構造來捕捉線蟲，若是線蟲已經先侵入感染植物根系，則無法捕捉到線蟲，這些原因可能降低線蟲捕捉性真菌捕捉線蟲的能力致於本實驗中處理效果不明顯。

有關線蟲捕捉性真菌添加的時機，Al-Hazmi 等人指出接種南方根瘤線蟲前 2、4、6 週接種線蟲捕捉性真菌 *Arthrobotrys conoides*，發現先接種線蟲捕捉性真菌，2 週後，再接種南方根瘤線蟲的達到比較好的防護效果<sup>(3)</sup>，Duponnois 討論根圈細菌 (rhizosphere bacteria) 對 *A. oligospora* 防治根瘤線蟲 (*Meloidogyne mayaguensis*) 的影響，也是先添加線蟲捕捉性真菌一週後才添加根瘤線蟲，先讓線蟲捕捉性真菌在土壤中建立族群，防護植物受植物寄生性線蟲的感染<sup>(13)</sup>。

只添加花生粕與奶粉的處理抑制薤菜根系的卵塊數目比添加花生粕與奶粉但不添加線蟲捕捉性真菌的處理效果好，這可能是因為添加的有機添加物 C/N ratio 小於 20 對線蟲有直接的毒害作用<sup>(20)</sup>，施用有機添加物可直接減少南方根瘤線蟲的數目。未來想要利用有機添加物作為線蟲捕捉性真菌養分來源，其施用方式仍須加以調整，另外線蟲捕捉性真菌施用量的多寡也是生物防治能否成功的一環。

## 引用文獻

1. 朱學曾、許師章. 1964. 台灣蔗園土中線蟲捕捉性真菌之調查研究. 台灣糖業試驗所研究彙報 73:81-88。
2. 吳琦如. 1986. 線蟲寄生菌生態之研究及其應用之評估. 國立台灣大學植物病蟲害學研究所碩士論文。
3. Al-Hazmi, A. S., Schmitt, D. P., and N., Sasser J. 1981. The effect of *Arthrobotrys conoides* on *Meloidogyne incognita* population densities in corn as influenced by temperature, fungus inoculation density, and time of fungus introduction in the soil. *J. Nematol.* 14:168-174.
4. Barker, K. R., Carter, C. C., and Sasser, J. N. 1985. Diagnostic Characteristics Useful in The Identification of The Four Most Common Species of Root-knot Nematode (*Meloidogyne* spp.) Pages 95-112 in: An Advanced Treatise on *Meloidogyne* Volume I North Carolina Sates University Graphics, Raleigh, North Carolina, USA.
5. Barron, G. L. 1977. The Endoparasitic Nematode-Destroying Fungi. Pages 57-88 in: The Nematode-Destroying Fungi. Canadian Biological Publication, Ont., USA.
6. Day, P. R. 1965. Particle Fractionation and Particle-Size Analysis. Pages 545-567. in: Methods of Soil Analysis Part 1. C. A. Black, D. D. Evans, J. L. White, L. E. Ensminger, and F. E. Clark eds, American Society of Agronomy, Wisconsin, USA.
7. Peech, M. 1965. Hydorgen-Ion Activity. Pages 914-926. in: Methods of Soil Analysis Part 2. C. A. Black, D. D. Evans, J. L. White, L. E. Ensminger, and F. E. Clark eds, American Society of Agronomy, Wisconsin, USA.
8. Blackburn, F., and Hayes, W. A. 1963. A chemically defined medium for the cultivation of nematophagous hyphomycetes. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46:449-452.
9. Cooke, R. C. 1962. The ecology of nematode-trapping fungi in the soil. *Ann. Appl. Biol.* 50:507-513.
10. Cooke, R. C. 1964. Ecological characteristics of nematode-trapping Hyphomycetes II germination of conidia in soil. *Ann. Appl. Biol.* 54:375-379.
11. Cooke, R. C., and Godfrey, E. E. S. 1964. A key to the nematode-destroying fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 47:61-74.
12. Dobbs, C. G., and Hinson, W. H. 1953. A widespread fungistasis in soil. *Nature* 172:197-199.
13. Duponnois, R., Amadou, M. B., and Mateille, T. 1998. Effects of some rhizosphere bacteria for the biocontrol of nematodes of the genus *Meloidogyne* with *Arthrobotrys oligospora*. *Fundam. Appl. Nematol.* 21:157-163.
14. Duponnois, Robin, Chotte, Jean Luc, sall, Sa, and Cadet, Patrice. 2001. The effects of organic amendments on the interactions between a nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora* and the root-knot nematode *Meloidogyne mayaguensis* parasitizing tomato plants. *Biol. Fertil. Soils* 34:1-6.
15. Gray, N. F. 1983. Ecology of nematophagous fungi: distribution and habitat. *Ann. Appl. Biol.* 102: 501-509.
16. Hayes, W. A., and Blackburn, F. 1966. Studies on the nutrition of *Arthrobotrys oligospora* Fres. and *Arthrobotrys robusta* Dudd. *Ann. Appl. Biol.* 58:51-60.
17. Jackson, M. L. 1958. Organic Matter Determinations for Soils. Pages 205-221. in: Soil Chemical Analysis, M. L. Jackson ed. Wisconsin, USA.
18. Jaffee, B. A. 1998. Susceptibility of a cyst and a root-knot nematode to three nematode-trapping fungi. *Fundam. Appl. Nematol.* 21:695-703.
19. Johnston, A., and Booth, C. 1983. in: Plant Pathologist's Pocketbook. Commonwealth Mycological Institute, Surrey, England.
20. Kabana, R. R., and Jones, G. M. 1987. Biological control of nematodes: Soil amendments and microbial antagonists. *Plant and Soil* 100:237-247.
21. McSorley, R., and Gallaher, R. N. 1995. Effect of yard waste compost on plant-parasitic nematode densities in vegetable crops. *J. Nematol.* 27:545-549.
22. Papavizas, G. C. and Lewis, J. A. 1981. Introduction and Augmentation of Microbial Antagoists for the Control of Soilborne Plant Pathogens. Pages 305-322. in: Biological Control in Crop Production. G. C. Papavizas eds. Allanheld, Osmun Co. New Jersey, USA.

## ABSTRACT

Lin, C. Y.<sup>1</sup>, Tsay, T. T.<sup>1,2</sup>, 2004. Effects of carbon and nitrogen sources on the trapping ability of nematode-trapping fungi. *Plant Pathol. Bull.* 13: 309-316. (<sup>1</sup> Department of Plant Pathology, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C., <sup>2</sup> Corresponding author, Email: [tttsay@mail.nchu.edu.tw](mailto:tttsay@mail.nchu.edu.tw); Fax: +886-4-22876712)

Sixty one rhizosphere soil samples from various crops in Taiwan were collected and nematode-trapping fungi were isolated by sprinkling methods. The soil pH value, soil texture, and the quantity of soil organic substrates of each soil sample were analyzed to investigate the relationships between environmental factors and the occurrence of nematode-trapping fungi. Nematode-trapping fungi were found in 68.85% of soil samples. The nematode trapping-fungi were present in soil samples containing organic substrates higher than 4%. The best growth temperature of these five nematode-trapping fungi, *Arthrobotrys cladodes*, *A. musiformis*, *Dactylaria borhopaga*, *Monacrosporium eudermata* and *M. ellipsosporium* were 28°C and the optimal pH value for growth was ranged from 5 to 9. It was found that net-forming fungi grew faster than knob-forming and ring-forming fungi. Adjusted the nitrogen source in Czapek's medium to 1%, all these five nematode-trapping fungi grew slower. *M. eudermata* showed the best trapping ability (50%) to *Aphelenchoides besseyi* on the Czapek's medium with 0.5% maltose and 0.2% NaNO<sub>3</sub>. However, nematode trapping ability would be reduced when carbon source increased to 3% or when either carbon or nitrogen source were lowered under 0.2%. In the green house tests, mixtures of organic substances and milk powder were adjusted to 2.5 C/N ratio, then served as the nutrient source for *M. eudermata*, which was used as a biological control agent of *Meloidogyne incognita*. The treatment of a mixture of soybeans meal, milk powder and *M. eudermata* showed significant results on controlling of *Meloidogyne incognita*.

Key words : biological control, *Meloidogyne incognita*, nematode trapping-fungi