

蘭共生菌對嘉德利亞蘭出瓶分生苗生長之影響

林佑東¹⁾ 王才義²⁾

關鍵字：蘭菌、嘉德利亞蘭、共生

摘要：嘉德利亞蘭營養系(*Cattleya dolosa* `Togashima`)接種 10 種蘭菌處理 6 個月後，接種 AP、PA-2、RR-1、TF 等菌種對植株高度、葉片長度、葉片寬度、葉片數皆有促進之效果，而根數生長以 RG 表現最佳；整體而言以接種 AP 菌株，對嘉德利亞蘭生長最佳。

前 言

嘉德利亞蘭為蘭科草本花卉，英名為 *Cattleya*。台灣所稱的嘉德利亞蘭不僅止於嘉德利亞蘭屬(*Cattleya*)，另外還包括其近緣屬的白拉索屬(*Brassavola*)、蕾利亞屬(*Laelia*)及索芙蘿屬(*Sophranitis*)，各屬中除了原生種外，四屬間亦可互相交配，因此有許多人工交配的新品種陸續問世。嘉德利亞蘭花朵華麗碩大，且有些具有甜美的香氣，因此被譽為「洋蘭之王」，常用來做為高級盆花及切花欣賞，一直廣受台灣及世界消費者喜愛。

蘭花菌根與其他類型的菌根相比，有極大的差異性：蘭科植物從種子發芽的異營生活到能行自營生活的幼苗期，皆須仰賴共生菌共生(Burgeff, 1959)。蘭花與菌根菌共生有許多的優點，最重要的是菌根菌可增進植物對土壤資源利用。

目前，對於蘭菌應用於嘉德利亞蘭栽培上，少有文獻報告可供參考。因此本研究以蘭菌在嘉德利亞蘭幼苗生長上進行探討。期望能廣泛利用之，能對於蘭花之保育及栽培上有所助益。

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

材料與方法

一、試驗材料

(一) 植株材料

由台中縣大里市永芳蘭園購得之嘉德利亞蘭(*C. dolosa* `Togashima`)分生瓶苗(mericlone), 苗瓶為 500 ml 之蘭花瓶, 每瓶含有 15-25 株小苗。小苗株高約 2-3 cm, 具 2-3 片葉片的組培苗。試驗前培養於中興大學園藝學系組織培養室中。

(二) 菌種代號及來源

BF(篩自白芨)、RG(白狐狸尾蘭)、RR-1(長穗狐狸尾蘭)、TF(台灣風蘭)等菌種為中興大學園藝學系花卉實驗室所保存。及本試驗新篩選之菌株 AP(紅花鹿角蘭)、PA-1、PA-2、PA-3(拖鞋蘭`金童`)、RR-2(長穗狐狸尾蘭)、SS(綠花寶石蘭)。以上菌株平時培養於 PDA 培養基上備用。

二、帶菌基質之製備

泥炭苔(TKS 2, 德國進口)基質, 經 70°C 烘箱處理 48 小時後, 秤取 150 g 乾燥的介質裝入 500 ml 的蘭花瓶, 加入 150 ml 的半量修飾 CM(Marianne and Marise, 1996)培養基(含 0.25% glucose, 0.25% peptone, 0.25% malt extract)。經高溫滅菌釜 121°C 滅菌 30 分鐘後, 待冷卻後接種一塊 0.2 × 0.2 cm 的菌絲塊, 將其培養於 25°C 黑暗下兩週, 每隔兩天搖晃一次, 使菌絲分佈生長均勻。

三、試驗方法

取嘉德利亞蘭瓶苗先於精密溫室中馴化 10 天, 將植株取出以水苔(紐西蘭進口)做為瓶苗出瓶及穴盤苗移植接種之介質。種植於 128 格穴盤中, 接種處理則每格介質表面灑上少量的泥炭苔菌種土, 每一處理 5 重複, 每重複 6 株。無菌株接種者為對照組。每隔 2 個月進行生育調查。調查項目有: 植株株高、假球莖數、莖徑、葉片數、葉長、葉寬、根數、鮮重及乾重等。

四、栽培環境

瓶苗移植後種於國立中興大學園藝學系水牆式精密溫室中, 於遮蔭 50% 的環境下生長, 待土表微乾後澆水至完全溼透。

結 果

選取 AP、BF、PA-1、PA-2、PA-3、RG、RR-1、RR-2、SS 及 TF 等菌株進行對嘉德利亞蘭幼苗生長試驗。嘉德利亞蘭(*C. dolosa* `Togashima`)接種 10 種蘭菌處理 6 個月後對於植株生長之影響。

由表 1 的結果顯示, 蘭菌在接種 2 個月至 6 個月期間, 時間愈長新生偽球莖生長(株高)愈高, 而添加菌種者愈後期效果愈顯著, 初期(2-4 個月)以 AP、PA-1、PA-2 等菌株對

株高較有正面促進的效果，後期(6個月)AP、PA-2、TF等菌株表現較佳，而其中以AP及PA-2菌種的添加對植株高度有最佳促進的效果。

在葉片數、葉片長度、葉片寬度方面，以葉長及葉數的差異值較大，接種蘭菌處理與對照組達到顯著差異。葉長方面以AP、PA-1、PA-2、TF等菌株對葉長生長較有幫助(表2)，葉片寬度方面在前期時接種蘭菌對葉寬較有幫助，如AP、PA-2、RR-1等菌株都有不錯的效果，然而在後期(6個月)則無明顯差異(表3)。而葉數方面以AP及RR-1等菌株效果表現最好(表4)。

在接種蘭菌6個月後之調查可知(表5、圖1)，新生偽球莖其接種處理與未接種處理的生長勢差異較大，如株高、葉片長度、葉片數的生長勢也較佳，但葉片寬度上並未達到顯著差異(表5)。可由(表5)的結果顯示，接種AP、PA-2、RR-1、TF等菌種對植株高度、葉片長度、葉片寬度、葉片數皆有促進之效果，凡是有接種者大都較未接種者來得好，整體而言以AP對嘉德利亞蘭的表現最佳(圖1)。

表 1. 蘭共生菌接種於 *Cattleya dolosa* 'Togashima' 嘉德利亞蘭分生苗對株高之影響

Table 1. Effect of orchid mycorrhizal fungi on plant height of *Cattleya dolosa* 'Togashima' mericlones.

Inoculum	Plant height (cm)		
	2 months	4 months	6 months
NM ^z	29.1e ^y	30.5d	43.4d
AP	45.8ab	45.9ab	54.6ab
BF	36.6d	38.8c	45.8cd
PA-1	45.9ab	47.4a	50.6abcd
PA-2	47.6a	47.8a	57.8a
PA-3	39.7cd	41.9abc	52.9abc
RG	39.2cd	44.3abc	51.0abc
RR-1	42.5abc	42.6abc	49.1cd
RR-2	40.9bcd	43.8abc	51.3abc
SS	39.1cd	45.5ab	46.3cd
TF	40.5bcd	40.8bc	54.1ab

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 2. 蘭共生菌接種於 *C. dolosa* `Togashima` 嘉德利亞蘭分生苗對葉生長之影響
 Table 2. Effect of orchid mycorrhizal fungi on leaf growth of *C. dolosa* `Togashima` mericlones.

Inoculum	Leaf length (mm)		
	2 months	4 months	6 months
NM ^z	25.6c ^y	26.2c	29.8d
AP	36.5ab	37.5a	40.6ab
BF	33.1b	34.0b	34.9c
PA-1	38.7a	39.7a	39.1abc
PA-2	36.9ab	40.3a	44.1a
PA-3	33.1b	36.2ab	41.0ab
RG	33.8b	33.3b	36.7bc
RR-1	33.6b	36.4ab	39.2abc
RR-2	35.6ab	36.3ab	38.5bc
SS	33.4b	34.1b	37.5bc
TF	35.5ab	36.1ab	40.5ab

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

地下部以接種 AP、BF、PA-1、PA-2、RG、RR-1 及 TF 菌種表現較佳。在植株地下部的根數上，由(表 5)顯示對照組地下部根數，接種菌種 AP、BF、PA-1、PA-2、RG、RR-1 及 TF 者差異值達顯著水準，因此接種菌種有促進地下部生長之效果。而其中以 RG 表現最佳，由(圖 2)可以觀察到，接種 RG 菌株者，與無接種菌株者差良多。

而在表 5 中顯示，對於鮮重同樣以 AP、PA-2 及 RR-1 菌種為佳，在植株鮮重及乾重方面，對照組未添加菌種者其地上部鮮重為 2.7g 與接種蘭菌 AP 處理者 5.2g 相差近一倍，差異度頗大。此外，抽樣植株採取根部來切片染色可發現，蘭菌於嘉德利亞蘭根部中形成大量的菌絲團，共生狀況良好(圖 3)。

討 論

為避免試驗差異，本試驗選擇營養系品種(mericlone) *C. dolosa* `Togashima` 做為試驗材料，以免因為實生苗基因型不同，造成生長勢上的差異。由結果得知以 AP 及 PA-2 菌種

的添加對植株高度有最佳促進的效果。葉長方面以 AP、PA-1、PA-2、TF 等菌株對葉長生長較有幫助，在葉片數、葉片長度、葉片寬度方面，以葉長及葉數的差異值較大，接種蘭菌處理與對照組達到顯著差異。而葉數方面以 AP 及 RR-1 等菌株效果表現最好。根部方面接種菌種 AP、BF、PA-1、PA-2、RG、RR-1 及 TF 者差異值達顯著水準，因此接種菌種有促進地下部生長之效果。對於鮮重同樣以 AP、PA-2 及 RR-1 菌種為佳，在植株鮮重及乾重方面，對照組未添加菌種者其地上部鮮重為 2.7g 與接種蘭菌 AP 處理者 5.2g 差異頗大。由表 5 結果指出嘉德利亞蘭(*C. dolosa* `Togashima`)於瓶苗出瓶時接種蘭菌 AP、PA-2、TF 等菌種，對於植株地上部及地下部皆有促進的效果，其中以 AP 菌種表現最佳，是值得推薦的有效菌種。而且這些有效菌株在接種嘉德利亞蘭種子及幼苗上也不會傷害嘉德利亞蘭小苗，甚而促其種子發芽，提高幼苗的生長勢，顯示這些菌株可作為嘉德利亞蘭之共生菌。

表 3. 蘭共生菌接種於 *C. dolosa* `Togashima` 嘉德利亞蘭分生苗對葉寬之影響

Table 3. Effect of orchid mycorrhizal fungi on leaf width of *C. dolosa* `Togashima` mericlones.

Inoculum	Leaf width (mm)		
	2 months	4 months	6 months
NM ^z	11.4e ^y	11.7g	19.8a
AP	16.6a	17.1bcd	21.9a
BF	12.9cd	14.4ef	19.7a
PA-1	15.3b	19.2a	20.7a
PA-2	15.6ab	17.7abc	21.8a
PA-3	13.9cd	16.1cde	19.8a
RG	13.6cd	14.8e	20.2a
RR-1	13.6cd	18.7ab	22.0a
RR-2	13.6cd	15.6de	21.1a
SS	12.6d	13.1fg	15.5b
TF	14.1c	15.2e	20.1a

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 4. 蘭共生菌接種於 *C. dolosa* `Togashima` 嘉德利亞蘭分生苗對葉數之影響
 Table 4. Effect of orchid mycorrhizal fungi on No. of leaves of *C. dolosa* `Togashima` mericlones.

Inoculum	No. of leaves		
	2 months	4 months	6 months
NM ^z	3.4bc ^y	3.3f	3.8bcd
AP	3.7b	3.7bcdef	4.8a
BF	3.7b	4.1ab	4.2abc
PA-1	2.4e	3.3ef	3.4d
PA-2	3.3bc	4.0abc	4.2abc
PA-3	3.0cd	3.8bcde	4.1abc
RG	3.3bc	3.7bcdef	4.4ab
RR-1	4.2a	4.4a	4.8a
RR-2	2.6de	3.4def	3.7bcd
SS	3.1c	3.6cdef	3.6cd
TF	3.4bc	3.9bcd	4.1abc

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

本試驗結果中發現，可促進蘭出瓶苗生長的菌株，不見得可以促進種子發芽，似乎種子對共生菌的專一性高於幼苗。在王(1999)的報告中提到，蘭共生菌的種類很多，蘭科植物種類也不少，以試驗得到的經驗，在種子期與根莖期以同種屬的蘭花所分離出的蘭菌，接種於同種屬的親合力較大，較易形成共生關係，待出瓶以後與蘭科植物間的專一性較不顯著(王, 1999)。本試驗中所使用的菌株，與林(2001)所使用的菌株有所重複，雖然接種菌根菌都可促進蘭苗的生長，然而適用菌株卻不盡相同，原因可能為菌株本身與宿主之間親合性不同所造成。

蘭花的根除了支持植物體外，還有吸收水分、運輸及貯藏的功能。著生性蘭可說是經常處於水分逆境的環境下生長，由於氣生根並無土壤供應水分，而呈現著生狀態，即使在熱帶雨林降雨量多的地區，大部分的水也可說是無效的。在表 5 顯示 *C. dolosa* `Togashima` 接種蘭菌 6 個月後發現，植株地下部根數及根鮮重，以接種 AP 菌種其差異值達顯著水準。

當蘭菌在根部大量進行感染時，除提供碳源之外，蘭菌尚會提供磷、礦物質、維他命等養份的運移(Harley & Smith, 1983)。學者指出菌根化的植物吸收磷肥的能力會顯著增強，磷肥之吸收和轉移與植物菌根化程度成正相關。由於磷在土壤中溶解度低且為不可移動性，所以磷的消耗區相對較小，而菌根菌有助於磷的吸收，乃藉由菌絲延伸越過磷肥消耗區(胡，1990)。根部外菌絲也會進行養分的運移，例如磷和礦物質等(Hadley, 1984)，如此可幫助植株吸收養分，促進生長。

在存活率方面，接種蘭菌根菌的所有處理，均較對照組高，顯示菌根菌可以有效提高蘭苗的成活。曾(2002)曾於菌根菌接種石斛蘭組織培養苗試驗中發現，接菌處理之植株成活率都較對照組之植株成活率高。一般組織培養苗移植出瓶時會使用消毒藥劑處理，以避免含有培養基中的糖類物質造成日後雜菌侵入的感染源，在瓶苗出瓶時對組培苗是最傷害的時期，因此添加有效菌種促使小植株恢復正常生長期，是一種可行的做法(張 2001；藍 2001)。於本研究結果發現，接種蘭菌的處理，植株的成活率均較高。林(2001)的報告中提到，受污染的石斛蘭瓶苗，經過清洗並接種蘭菌者，可正常發育及生長，而無接種蘭菌者，則陸續死亡；此現象在報歲蘭也曾觀察到(王, 1999)。

表 5. 蘭共生菌接種 6 個月後對嘉德利亞蘭 *C. dolosa* 'Togashima' 出瓶分生苗生長之影響

Table 5. Effect of orchid mycorrhizal fungi on the growth of *C. dolosa* 'Togashima' mericlones 6 months after inoculation.

Inoculum	Survival (%)	Fresh weight	Dry weight	No. of roots
NM ^z	84.4b	2.7d	0.22d	7.5d
AP	100.0a	5.2a	0.42ab	11.1ab
BF	100.0a	4.3abc	0.34abc	10.6ab
PA-1	94.7ab	3.5cd	0.32bc	10.2ab
PA-2	100.0a	5.0ab	0.43a	10.4ab
PA-3	100.0a	4.0bc	0.38abc	9.8bc
RG	95.8a	4.4abc	0.35abc	11.9a
RR-1	100.0a	5.2a	0.40ab	11.1ab
RR-2	96.2a	3.3cd	0.30c	8.4cd
SS	95.5a	2.6d	0.21d	4.4e
TF	100.0a	4.0bc	0.34abc	10.4ab

^z NM: Non-mycorrhizal control.

^y Means with the same letter within a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.



圖 1. 十種蘭共生菌接種 6 個月後對嘉德利亞蘭 *C. dolosa* 'Togashima' 分生苗生長之影響。由左至右為對照組、AP、BF、PA-1、PA-2、PA-3(上); RG、RR-1、RR-2、SS、TF(下).

Fig 1. Effect of ten orchid mycorrhizal fungi on the growth of *C. dolosa* 'Togashima' mericlones after 6 months of inoculation. Left to right were no mycorrhizal control、AP、BF、PA-1、PA-2、PA-3 (up); RG、RR-1、RR-2、SS、TF (down).



圖 2. 蘭共生菌接種 6 個月後對嘉德利亞蘭 *C. dolosa* 'Togashima' 出瓶分生苗根部生長之影響。(左：無接種之對照組；右：接種蘭菌 RG 者根數較多)

Fig 2. Effect of orchid mycorrhizal fungi on the root growth of *C. dolosa* 'Togashima' mericlones after 6 months of inoculation.(left : no mycorrhizal control ; right : OMA-RG)

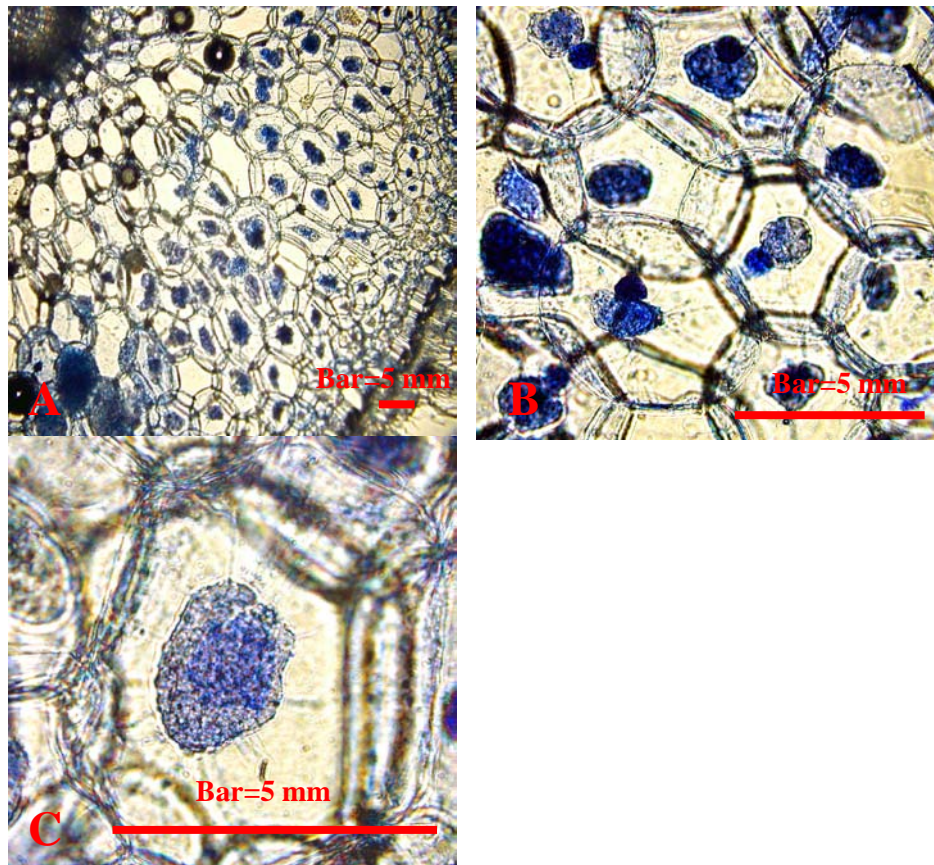


圖 3. 蘭菌於嘉德利亞蘭 *C. dolosa* `Togashima` 分生苗根部皮層形成菌絲團的情形。

A、嘉德利亞蘭感染菌根之橫切面

B、於皮層細胞中形成菌絲團

C、菌絲團構造

Fig 3. The orchid mycorrhizal fungi forming peloton of TC orchid mericlone root cortex observed under light microscope.

A. The cross section of orchid mycorrhizal fungi infected.

B. Well developed pelotons in the cortex cells of root.

C. The peloton structure of orchid mycorrhiza.

在不良環境的忍受力上，學者指出共生發芽的植株於根部形成菌根，有抵抗病原菌的能力，對植株產生保護作用，此外亦可提高小植株移植至土壤中之存活率(Tan *et al.*, 1998)。Bernard 指出蘭花的根部本身也會分泌一種抗菌物質，一般以紅蘭(*Orchis militaris*)的根部及塊莖最多，此抗菌素是一種原始且主動分泌的抗菌物質，其會分解和抵制蘭菌或其他真菌的入侵，尤其在許多歐洲原生的蘭科植物中都可觀察到此現象(Beyrle *et al.*, 1994; Harley & Smith, 1983)。

本試驗中的嘉德利亞蘭苗，雖然處理組與對照組之間有顯著性差異，然而生長速度較一般栽培者稍慢，推測原因為本試驗期間於秋天至翌年春天，其中經歷冬天低溫，對於原生於熱帶的嘉德利亞蘭溫度稍低，使蘭苗生長較緩慢；且栽培溫室之光度較低，影響光合作用產物的累積。然而本試驗中處理組植株葉片肥厚翠綠健康，若能搭配良好的環境，可能會有更佳的效果出現。環境中的光線、溫度、養分及植株年齡，均會影響蘭菌與蘭科植物建立之共生關係，未來應一併探討這些環境因素、植株差異及蘭菌種類，以便對蘭菌應用上有更近一步的發展與了解。

蘭共生菌確實可以幫助蘭苗的生長，並提高成活率，只要找出適當的蘭共生菌，當成生物肥料來使用，便可減少化學藥劑的使用，對於複雜的生態體系是很有幫助的。

參 考 文 獻

- 王美琇。1999。蘭共生菌與數種蘭科植物生長與發育之影響與應用。台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- 林秋芬。2001。蘭菌對石斛蘭種子發芽與幼苗生長之影響。國立中興大學園藝學研究所碩士論文。
- 胡弘道。1990。林木菌根。千華出版公司。666 頁。台北。
- 張棋雯。2001。彩葉蘭與彩葉蘭道生種之大量繁殖與蘭菌之利用。國立台灣大學園藝研究所碩士論文。
- 曾千容。2002。石斛蘭蘭菌之分離、鑑定與培養及其對石斛蘭生長之影響。台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- 藍亦青。2001。蘭菌對蝴蝶蘭與拖鞋蘭生長與發育之影響。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- Beyrle, H. F., S. E. Smith, R. L. Peterson, and C. M. M. Franco. 1994. Colonization of *Orchis morio* protocorms by a mycorrhizal fungus : effects of nitrogen nutrition and glyphosate in modifying the responses. *Can. J. Bot.*73:1128-1140.
- Harley, Fra. J. L. and S. E. Smith. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. p.268-298. Academic Press. London.

- Hadley, G. 1984. Uptake of ^{14}C glucose by asymbiotic and mycorrhizal orchid protocorms. *New Phytol.* 96:263-273.
- Marian, B. and B. Marise. 1996. Identification at strain level of *Rhizoctonia silani* AG4 isolates by direct sequence of asymmetric PCR products of ITS regions. *Curr. Genet.* 29:174-181.
- Tan, T. K., W. S. Loon, E. Khor, and C. S. Loh. 1998. Infection of *Spathoglottis plicata*(Orchidaceae) seeds by mycorrhizal fungus. *Plant Cell Rep.* 18:14-19.

Orchid Mycorrhizal Fungi Inoculum Production and Effects on the Growth of *Cattleya*.

Yu-Tung Lin ¹⁾ Tsai-Yih Wang ²⁾

Key words: orchid mycorrhiza, *Cattleya*, symbiotic

Summary

C. dolosa 'Togashima' mericlones were inoculated with ten orchid mycorrhiza isolates for 6 months. The results showed that the growth of plant height, leaf length, leaf width and number of leaves of mericlones inoculated with AP, PA-2, RR-1 or TF were significantly enhanced. However, number of roots of RG treatments was more than those of other treatments. On the whole AP treatment was the best in the growth of *Cattleya*.

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

Corresponding author.