

## 氮肥與蕈狀芽孢桿菌對百慕達草'Dwarf'生長之影響

李 捷 閔<sup>1)</sup> 林 深 林<sup>2)</sup>

關鍵字：蕈狀芽孢桿菌、氮肥型態、百慕達草

**摘要：**本研究探討施用不同氮肥和蕈狀芽孢桿菌後對百慕達草'Dwarf'生長之影響，氮肥包含水溶性速效肥料(尿素)，以及緩效型的有機肥，調查百慕達草生長量並分析植體營養元素以了解芽孢桿菌屬對氮肥吸收的效益。百慕達草'Dwarf'接種蕈狀芽孢桿菌菌液並施肥後，可以顯著提高草屑鮮重、乾重、植體磷、鉀及鋅含量，但是降低草坪綠覆蓋率、植體氮、鎂、鈣、鐵、錳、銅含量。尿素處理後植體微量元素較低，施用有機肥後植體營養元素含量顯著較高。

### 前 言

百慕達草(Bermudagrass)又稱為狗牙根草，屬於禾本科中狗牙根屬(*Cynodon*)植物，廣泛分布於熱帶與溫帶地區，起源可能來自於東非，百慕達草為C4型植物，喜強光、長日照、不耐陰，耐旱、耐鹽性佳，雖喜愛高濕環境卻不耐淹水。百慕達草能適應砂質或黏質土壤，土壤酸鹼不拘，可藉由匍匐莖、地下莖或種子繁殖，生長勢強且覆蓋快速，常被用來作為草坪用草(王，2000)。

植物生長促進根圈細菌(plant growth-promoting rhizobacteria)，簡稱PGPR，泛指所有存在於植物根圈附近有利於植物生長發育的細菌(薛等，2007; Kloepper and Schroth 1978)。芽孢桿菌屬(*Bacillus* spp.)為革蘭氏陽性細菌，普遍存活於植物體表面或根圈土壤，對人、動物和環境無害，安全無虞(Schallmeyer *et al.*, 2004)，可以形成抗逆境能力很強的內生孢子(endospore)，待環境合適時，內生孢子發芽可再行增殖(Driks, 2004; Moszer *et al.*, 2002; Piggot and Hilbert, 2004)，因此極適合開發成生物製劑，增加其在農業上的實用價值(Msadek, 1999)。*B. mycoides* 中文名為蕈狀芽孢桿菌，由Flüggen於1886年發表命名，其在培養基上菌落型態特殊，呈現放射絲狀(radial filament)排列，類似真菌菌落可向外生長，

---

1) 國立中興大學園藝系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝系講師，通訊作者。

非常容易辨識(Franco *et al.*, 2002)。

施肥後約僅 20-50%肥料成份被作物吸收利用(Adesemoye and Kloepper, 2009)，過度地施用化學肥料會使硝酸鹽被淋洗(leaching)到地下水，造成地下水質汙染(Munster, 2008)，土壤或植物接種 PGPR 後可以改善土壤物化性質、促進植物生長、降低病害、減少化學肥料的施用(黃等, 2013)，以達到友善環境的效果。本試驗探討施用不同氮肥和蕈狀芽孢桿菌後調查百慕達草生長量並分析植體營養元素以了解 PGPR 對氮肥吸收的效益。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

本試驗材料為由嘉南球場提供之百慕達草'Dwarf'草栓塞(plug)繁殖而成，種植於 60\*30\*10 cm 的黑色塑膠育苗盤中，栽培介質為石英砂(金晶矽砂股份有限公司，台灣)，由霧峰高爾夫球場提供，種植於國立中興大學溫室 7 個月後開始試驗。

### 二、試驗方法

#### (一)試驗處理

試驗於 2015 年 7 月開始，採複因子設計(Factorial Design)，菌液處理為不加菌的對照組(CK)及蕈狀芽孢桿菌(BM) (菌專家蕈狀芽孢桿菌，聯發生物科技股份有限公司，台灣)，將菌粉加入無菌水中活化內生孢子，醒菌 12 hr 後將菌液澆灌到草坪上接種，每盤草施用 1L，BM 菌用量為每公升菌液加入 2.5 g 菌粉(含  $10^9$ cfu/g BM 菌)。肥料處理為有機肥(O) (Sustâne 4-6-4, Sustâne Natural Fertilizer, Inc., USA)、尿素(U) (寶農牌尿素，盤錦遼河化工有限責任公司，中國)、同時施用半量有機肥和半量尿素(O+U)，以及不施肥組(NF)。菌液接種(試驗開始)2 天後開始施肥，有機肥直接均勻撒施，尿素溶於水後澆灌，每 2 週施肥一次，施氮量為 0.5 lb/1000 ft<sup>2</sup>(相當於 244g /100 m<sup>2</sup>)，每 2 週以手提式剪草機(Ryobi-AB1110，日本)修剪一次，剪草高度 1.5 cm，收集草屑並作為分析樣品。本試驗共 8 種處理，每處理有 4 個重複，每重複為 1 盤。

#### (二)調查項目

##### 1. 植株生長量調查

將收集來的草屑立即秤取鮮重後以去離子水沖洗，擦乾後裝進信封袋內，放入 100°C 烘箱中殺菁 1 hr 以中止生化反應，再以 70°C 烘乾 48 hr 以上，直至草屑完全乾燥後秤取乾重，並計算乾鮮比及含水率。將乾燥之草屑以小型高速粉碎機(DM-6，佑崎機械有限公司)磨碎至顆粒粒徑小於 40 mesh，並保存於乾燥箱中備用。

##### 2. 綠覆蓋率(Green Coverage Rate)

簡稱 GCR，於剪草後固定高度拍攝每盤草的照片，以 Matlab 程式(MATrixLABoratory, The MathWorks, Inc., USA)計算圖檔中綠色所佔的面積比例，可做為評估草坪密度的指標。

### 3. 植體氮分析

精秤 0.2 g 樣品粉末置於分解管中，加入 1 g Selenium reagent mixture (Merck) 及 4.5 ml 濃硫酸後立即放置於高溫分解爐，以 410°C 持續加熱 3 hr 以上，將分解管取出慢慢冷卻至室溫，以去離子水定量至 75 ml 後以氮分析儀 (Model 380 Inorganic Nitrogen Analyzer, Altech Associates, Inc., USA) 分析。

### 4. 植體元素分析

切取 10\*10\*10cm 的草塊，分成地上部及地下部，小心沖洗附著的土壤後以去離子水清洗乾淨，擦乾後裝進信封袋內，烘乾、磨粉後備用。

乾灰化法 (Dry Ashing Method)：精稱 0.5g 樣品粉末置於陶瓷坩堝中並且加蓋，放入灰化爐內，先以 200°C 加溫 2 hr，再以 400°C 加熱 1 hr，最後以 550°C 加熱 2 hr 使樣品完全灰化，待坩堝冷卻後，加入 5 ml 2N HCl 將灰分溶解，以去離子水將坩堝內之樣品完全洗下，利用 Advantec 5B 濾紙過濾並定量至 25 ml，裝入 100 ml 之 HDPE 瓶內冷藏保存。

植體磷含量採鉬黃法 (Vanadate-Molybdate Yellow Method; Horwitz, 1970) 測定，並以原子吸收光譜儀 (atomic absorption spectrophotometer, Model Z-2000, Hitachi, Japan) 分析植體鉀、鎂、鈣、鐵、錳、鋅及銅含量。

## 三、統計分析

數據以 CoStat 統計軟體進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，並以最小顯著差異 (Least significant difference, LSD) 分析各處理間的顯著差異 ( $P = 0.05$ )。

## 結 果

百慕達草 'Dwarf' 接種蕈狀芽孢桿菌稀釋 400 倍的菌液後，再分別施用尿素與有機肥。接種 BM 後第 1 週，鮮重及乾重皆與對照組無顯著差異，第 7 週時鮮重及乾重顯著高於對照組。肥料方面，第 1 週所有肥料處理之間無顯著差異，處理第 7 週時尿素對鮮重的促進效果最佳，其次是半量有機肥加半量尿素，再來是有機肥，未施肥組最差 (圖 1)。

草坪外觀以綠覆蓋率表現，試驗開始第 1 週所有處理間皆無顯著差異，接種 BM 後第 7 週綠覆蓋率 (GCR) 顯著低於對照組，且有施肥的處理皆比未施肥組高 (圖 2)。接種 BM 後草屑氮含量顯著低於對照組，試驗開始後第 1 週，有機肥處理的氮含量顯著最高，第 7 週時尿素及半量有機肥加半量尿素處理氮含量顯著低於未施肥組 (圖 2)。

處理後第 8 週調查植體地上部及地下部的營養元素，地上部方面，接種 BM 後氮、鎂、鈣、鐵、錳及銅含量顯著較對照組低，磷、鉀及鋅含量較高，有機肥處理的磷、鉀、鎂、鈣、鐵、錳、鋅及銅含量皆顯著最高，未施肥組所有大量元素含量皆最低，而尿素處理所有微量元素含量皆最低 (圖 3)。在地下部方面，接種 BM 後磷、鉀及鋅含量顯著較對照組高，鎂、鈣、鐵及錳含量較低，有機肥處理的磷、鉀、鎂、鐵、錳及鋅含量皆顯著最高，尿素處理的磷、鎂、錳、鋅及銅含量最低，未施肥組的磷、鉀、鎂及鐵含量最低 (圖 4)。

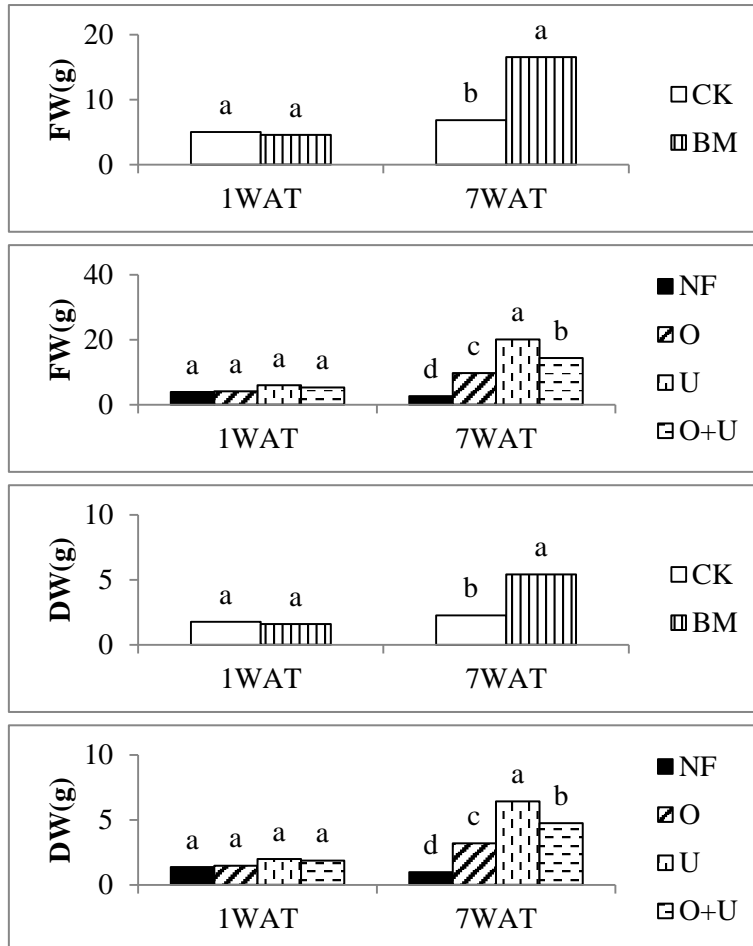


圖 1. PGPR 及氮肥處理對百慕達草'Dwarf'每日平均草屑產量鮮重及乾重之影響

Fig. 1. Effects of PGPR and Nitrogen applied on fresh weight and dry weight of clippings harvested from 'Dwarf' bermudagrass. Mean values followed by different letters showed significant differences at 5% by LSD test. WAT: week(s) after treatment.

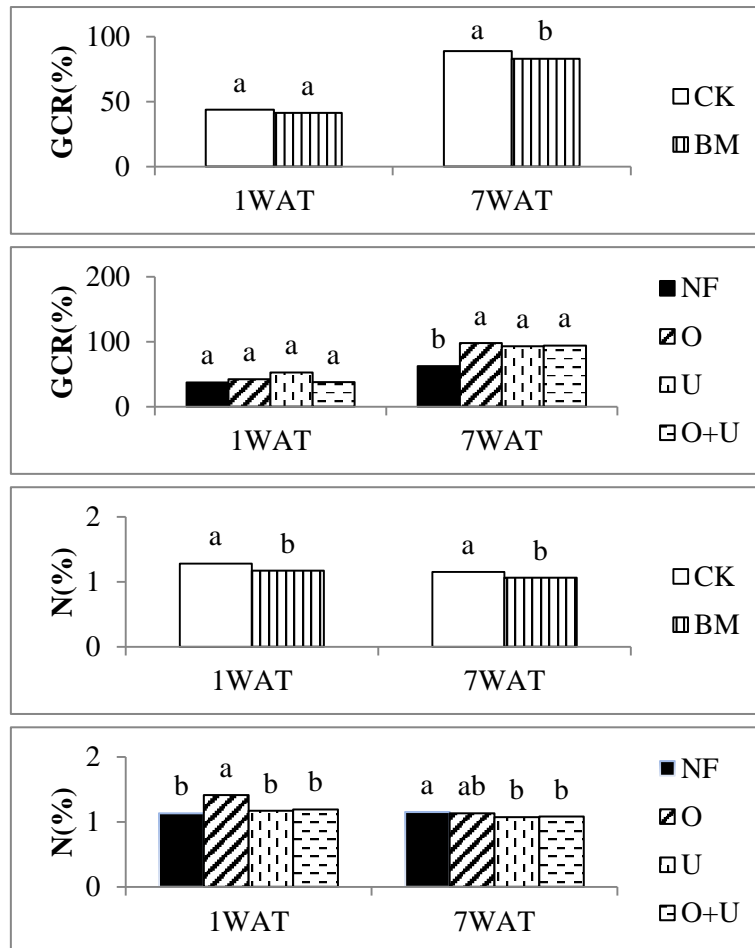


圖 2. PGPR 及氮肥處理對百慕達草'Dwarf'綠覆蓋率及草屑氮含量之影響

Fig. 2. Effects of PGPR and Nitrogen applied on green coverage rate (GCR) of turf and nitrogen content in clippings harvested from 'Dwarf' bermudagrass. Mean values followed by different letters showed significant differences at 5% by LSD test. WAT: week(s) after treatment.

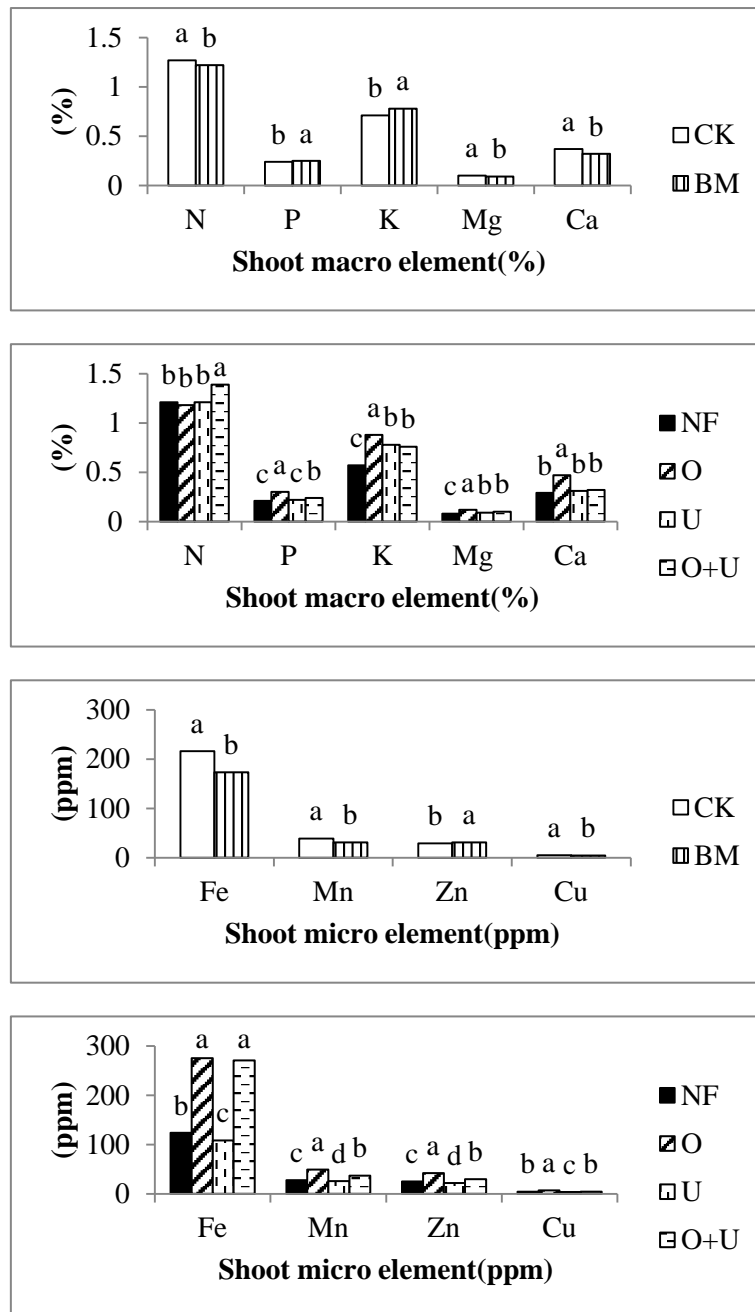


圖 3. PGPR 及氮肥處理 8 週後對百慕達草'Dwarf'地上部大量及微量元素之影響

Fig. 3. Effects of PGPR and Nitrogen applied on macro and micro element contents in shoot of 'Dwarf' bermudagrass 8 weeks after treatment. Mean values followed by different letters showed significant differences at 5% by LSD test.

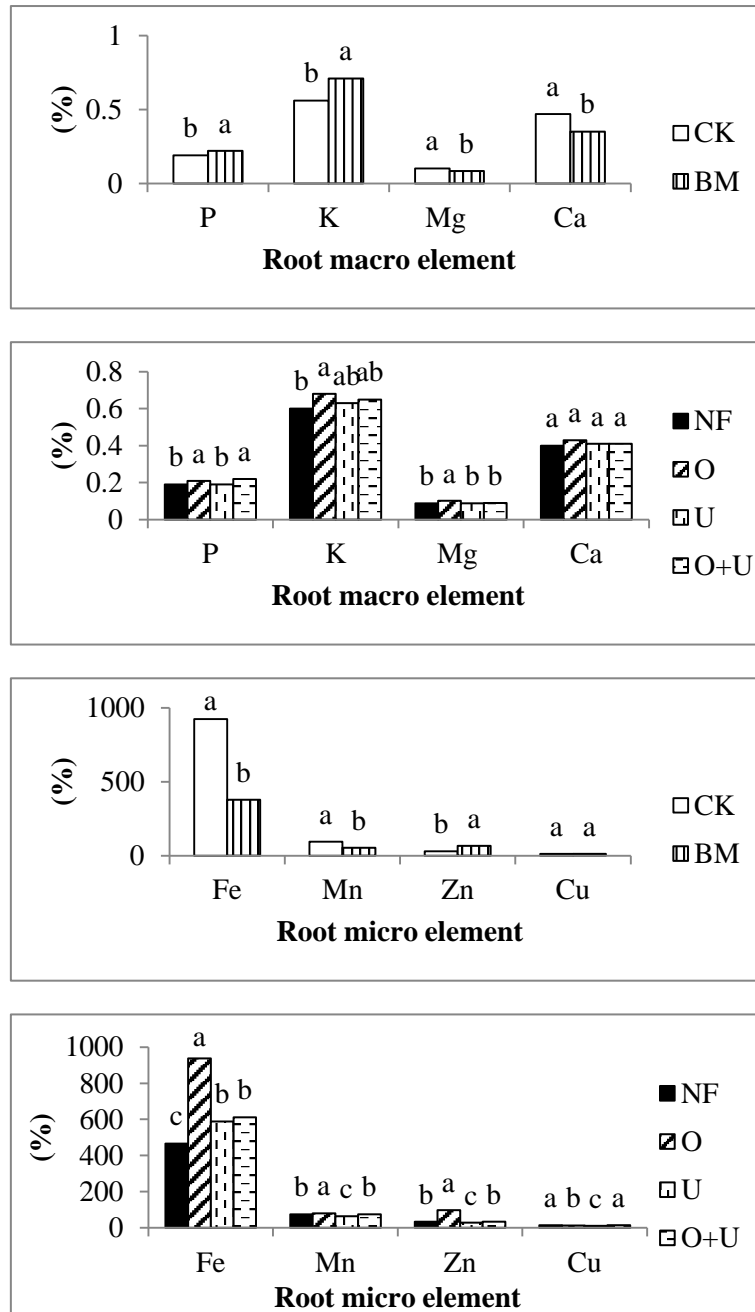


圖 4. PGPR 及氮肥處理 8 週後對百慕達草'Dwarf'地下部大量及微量元素之影響

Fig. 4. Effects of PGPR and Nitrogen applied on macro and micro element contents in root of 'Dwarf' bermudagrass 8 weeks after treatment. Mean values followed by different letters showed significant differences at 5% by LSD test.

## 討 論

前人研究在番茄接種簡單芽孢桿菌(*B. simplex* KBS1F-3)和仙人掌桿菌(*B. cereus* KFP9-F)能促進地上部、地下部鮮重、地下部乾重及總根長的增加(Hassen and Labuschagne, 2010)，這與本研究結果相符，本試驗施用 BM 後草屑鮮重、乾重皆提升(圖 1)。Karlidag 等(2013)在草莓接種枯草桿菌(*B. subtilis* EY2)、萎縮芽孢桿菌(*B. atrophaeus* EY6)、球型芽孢桿菌(*B. sphaericus* GC subgroup B EY30)等 5 種 PGPR 後，葉片和根的氮、磷、鉀、鈣、鎂、硫、錳、銅及鐵皆提高(Karlidag *et al*, 2013)，本試驗接種 BM 後，植體地上部、地下部磷、鉀及鋅含量皆顯著高於對照組，但是氮、鎂、鈣、鐵及錳含量低於對照組(圖 2、圖 3、圖 4)。

本試驗施肥後草屑鮮重、乾重、綠覆蓋率、植體地上部鉀、鎂含量及地下部鐵含量皆顯著高於未施肥組，施用速效態氮尿素後植株吸收速率快，鮮重、乾重皆快速累積，施用有機肥後植體地上部磷、鉀、鎂、鈣、鐵、錳、鋅、銅含量、地下部磷、鉀、鎂、鐵、錳、鋅含量最高，施用半量有機肥加半量尿素的數值多介於兩種肥料之間(圖 1、圖 3、圖 4)。Song 等(2015)將 *B. subtilis* 和膠質芽孢桿菌(*B. mucilaginosus*)結合蚓糞有機肥施用在輪作番茄和菠菜，結果顯示蚓糞能提升 PGPR 對土壤和作物的有效利益，促進量則因蚓糞量和作物種類而異，施用低量蚓糞時，PGPR 顯著提高番茄和菠菜的產量，在高量蚓糞時只有番茄產量提高，蚓糞和 PGPR 對於作物品質有強烈的協同作用。本研究中施用有機肥的 'Dwarf' 百慕達草，有接種 BM 的處理和未接種的相比，接種 BM 後草屑鮮重、乾重、植株地下部磷、鉀、鋅含量皆顯著最高(圖 1、圖 4)，驗證了 PGPR 與有機肥之間可能有協同作用的關係。

植物吸收無機態氮的型態主要為硝酸態氮及銨態氮(王和吳，1992；Barker and Mills, 1980)，施用有機肥可以改善土壤物化性以及生物性，有機質在土壤中經由微生物酵素作用，含碳化合物分解成二氧化碳，蛋白質水解成胺基酸，再經過硝化作用形成硝酸態氮，成為供應植物利用的氮源，並且也提供氮以外的其他必要元素(朱，1984)。不論速效氮肥還是緩效氮肥，對百慕達草草坪綠覆蓋率皆無明顯的差異(圖 2)，只要氮肥充足，注意營養元素的均衡施用，並且配合適當地灌溉、修剪、病蟲害管理等常務管理即可達到最佳草坪品質。

## 參 考 文 獻

- 王裕文。2000。草坪草之生態、分佈與利用。中華民國雜草學會會刊 21:1-16。  
王銀波、吳正宗。1992。水耕液中的氮素問題。養液栽培技術講習會專刊 4:15-27。  
朱鈞。1984。作物學通論：作物與環境。臺灣商務印書館。426pp。  
黃威特、曾景漢、許書華、牟家緯、黃筑甯、李昆達、盧虎生、劉啟德。2013。自台灣本



- 土分離篩選的固氮菌與光合菌對小白菜生長促進效果。植物病理學會刊 22:31-44。  
薛成、張金志、童良軍、孔祥森。2007。水稻施用生長促進菌效果初探。黑龍江八一農墾  
大學學報 19:37-40。
- Adesemoye, A. O. and J. W. Kloepper. 2009. Plant-microbes interactions in enhanced  
fertilizer-use efficiency. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85:1-12.
- Barker, A. V. and H. A. Mills. 1980. Ammonium and nitrate nutrition of horticultural crops.  
*Hort. Rev.* 2:395-423.
- Driks, A. 2004. The *Bacillus* spore coat. *Phytopathology* 94:1249-1251.
- Franco, C. D., E. Beccari, T. Santini, G. Pisaneschi, and G. Tecce. 2002. Colony shapes as a  
genetic trait in the pattern-forming *Bacillus mycoides*. *BMC Microbiol.* 2:33-48.
- Hassen, A. I. and N. Labuschagne. 2010. Root colonization and growth enhancement in wheat  
and tomato by rhizobacteria isolated from the rhizoplane of grasses. *World J. Microbiol.  
Biotechnol.* 26:1837-1846.
- Karlidag, H., E. Yildirim, M. Turan, M. Pehlivan, and F. Donmez. 2013. Plant  
growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry  
plants (*Fragaria×ananassa*). *HortScience* 48:563-567.
- Kloepper, J. W. and M. N. Schroth. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes, p.  
879-882. In: Angers (ed.). Proceedings of the fourth international conference on plant  
pathogenic bacteria. Gibert-Clarey, Tours.
- Moszer, I, L. M. Jones, S. Moreira, C. Fabry, and A. Danchin. 2002. SubtiList: the reference  
database for the *Bacillus subtilis* genome. *Nucl. Acid. Res.* 30:62-65.
- Msadek, T. 1999. When the going gets tough: survival strategies and environmental signaling  
networks in *Bacillus subtilis*. *Trends Microbiol.* 7:201-207.
- Piggot, P. J. and D. W. Hilbert. 2004. Sporulation of *Bacillus subtilis*. *Curr. Opin. Microbiol.*  
7:579-586.
- Schallmey, M., A. Singh, and O. P. Ward. 2004. Developments in the use of *Bacillus* species for  
industrial production. *Can. J. Microbiol.* 50:1-17.
- Song, X., M. Liu, D. Wu, B. S. Griffiths, J. Jiao, H. Li, and F. Hu. 2015. Interaction matters:  
Synergy between vermicompost and PGPR agents improves soil quality, crop quality and  
crop yield in the field. *Appl. Soil Ecol.* 89:25-34.

## Effects of Nitrogen Fertilizers and *Bacillus mycooides* on the Growth of 'Dwarf' Bermudagrass

Jie-Min Li <sup>1)</sup> Shen-Lin Lin <sup>2)</sup>

Key words: *Bacillus mycooides*, nitrogen type, bermudagrass

### Summary

The objective of this study was to evaluate the effects of nitrogen fertilizers and *Bacillus mycooides* (BM) applied as PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) on the growth of 'Dwarf' bermudagrass. Nitrogen fertilizers included water-soluble fertilizers (urea) and slow-release organic fertilizer were applied. Plant growth and tissue analysis were investigated to find out correlation between BM and nitrogen absorption in 'Dwarf' bermudagrass. BM inoculation promoted fresh weight, dry weight, P, K, and Zn contents in 'Dwarf' bermudagrass, but reduced green coverage rate, N, Mg, Ca, Fe, Mn, Cu contents in plants. Urea application decreased micro element contents in plants. Organic fertilizer application increased all nutrient element contents in plants.

---

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

2) Lecturer, Department of Horticulture, National Chung Hsing University, Corresponding author.