

# 林業新尖兵—暗色隔膜內生菌

◎文、圖/國立嘉義大學森林暨自然資源學系·林瑞進 (linerm@mail.ncyu.edu.tw)

## 前言

真菌在整個生態系統上扮演著關鍵性的角色，其功能包括淘劣存優、分解有機質、互利共生等之交互作用；每種植物都有一種以上的內生真菌(endophyte)與其共生，其中木本植物可能存在著數百或數千種以上的內生真菌。內生真菌一詞，最早在1886年是由Bary提出，是指生活在植物組織內的微生物；直到，2000年在由Mostert等學者提出，為真菌存活於植物體中但不導致病害發生，稱之為真正的內生真菌(true endophytes)。

根據吳書雅(2012)論文指出，內生真菌會因寄主種類、地理環境及溫度與氣候的變化而有差異，因此將內生真菌依分類地位、寄主範圍、纏聚寄主組織的區域、於寄主組織內部的廣泛性、生物多樣性、傳播方式及適應性等特性分成四大群。第一群是以麥角菌科(Clavicipitaceae)為主的內生真菌，寄主範圍窄，主要分布於寄主之莖部與根圈容易被分離，生物多樣性不高，可進行水平或垂直傳播；第二群內生真菌具有在寄主植物中行系統性感染的特性，寄主範圍廣；第三群內生真菌僅分布在寄主植物的枝條上，盤據範圍較小，僅能行水平式傳播；第四群內生真菌主要生長於植物根部，具有深黑色的隔膜，這些內生真菌常與菌根共存而被稱為假菌根真菌(pseudomycorrhizal fungi)。

在1998年Jumpponen 和Trappe學者重新給予上述第四群內生真菌這類真菌較明確之定義，並給予新的名詞，稱之為暗色隔膜內

生菌(dark septate endophytes, DSE)，係指具有隔膜之暗色菌絲，能生長在健康植物的根部細胞內或細胞間之真菌；此類真菌會在寄主植物的根部細胞間及細胞內形成感染，並於其內產生微菌核(microsclerotia)；但不會對植物造成負面影響。目前，已證實DSE的功效包括，促進植物生長、提高抗病和生理的能力、及適應逆境(乾旱和重金屬)能力，因此，在自然生態系中扮演著重要的角色。

然而，生長在植物根系中的有益真菌，一般都指向菌根菌(mycorrhizal fungi)；菌根可分為外生(ectomycorrhizae)、內生(endomycorrhizae)及外內生(ectendomycorrhizae)等三大類菌根；在2004年Peterson 等學者依據寄主植物、解剖形態等特徵再細分為：外生菌根、叢枝菌根(arbuscular mycorrhizae)、AM、杜鵑類菌根(ericoid mycorrhizas, ERM)、蘭菌根(orchid mycorrhizas, OM)、漿果鵝類菌根(arbutoid mycorrhizas, ARM)、外內生菌根、水晶蘭類菌根(monotropoid mycorrhizas, MM)及暗色隔膜內生菌(DSE)等8大類。其中，暗色隔膜內生菌為國內較陌生的一分類群。

## 一、DSE的分類地位

DSE的分類研究可說是相當困難，且一直困擾著許多真菌學家，其主要原因為：(1) 菌落組成、菌絲、分生孢子的形態會因為培養環境不同而產生多樣化，致使真菌學者對於DSE的描述產生混亂；(2) DSE在自然或人工培養之環境下，大多是以無性世代之狀態存在，僅有少數可在培養條件下誘導產孢，故

在孢子型態特徵、產孢結構及產孢方式的資訊皆相當缺乏。而目前以傳統型態鑑定之方法大約可將DSE分為10個屬近30種，分別屬於 *Cadophora*、*Chloridium*、*Cryptosporiopsis*、*Exophiala*、*Heteroconium*、*Leptodontidium*、*Oidiodendron*、*Phialophora*、*Scytalidiym*、*Trichocladium*。其中大多數植物最常分離出的菌種為以下5種：*Chloridium paucisporum*、*Leptodontidium orchidicola*、*Phialocephala dimorphospora*、*Phi. fortinii*、*Phi. finlandia*。

隨著研究之進展，分子生物技術興起，應用PCR技術為基礎發展的各種分子生物學研究方法，廣泛應用於真菌分類鑑定，使得DSE在菌種、菌屬間之分類鑑定更能明確辨識，且提供了更快速、更準確之鑑定方法。因此現今DSE之分類大多透過DNA序列比對分析作為分類鑑定之輔助。然而其缺點是基因資料庫尚未健全，事實上仍有許多未知的DSE和根部內生菌 (microfungal root endophytes, MRE) 還未鑑定。

## 二、DSE形態結構特徵

### (一)、菌絲 (hyphae)

許多研究報告指出，DSE普遍存在於自然界中植物體根部。其通常在植物根的表面形成表面菌絲 (runner hyphae)；菌絲一旦進入根內，會在根的表皮和皮層細胞間隙沿縱軸方向生長，具明顯的橫隔；其菌絲壁厚，顏色多元，大多具有黑色素(圖1)，常見為深棕色、棕黑色、灰色、棕灰色、亦有灰色等較淺顏色，且隨著菌絲的延伸，顏色可能由深變淺，甚至菌絲會產生透明化(圖1)。

### (二)、微菌核(microsclerotia)

微菌核為DSE的重要辨識特徵，形狀大小不一，常存在於皮層細胞內，主要是由細胞壁加厚的膨大細胞緊密堆積而成，且顏色多為暗色、棕色，但也有較淺至透明的顏色。有文獻指出微菌核內含有多醣(polysaccharides)、蛋白質(proteins)及聚磷酸鹽等物質 (polyphosphates)，且具有很厚的細胞壁，可以保護真菌在不利環境下生存，而此構造亦可以幫助真菌休眠，直到有利的條件時再發芽。而目前在樟科植物牛樟 (*Cinnamomum kanehirae* Hay.)根部皮層細胞內，有發現暗色微菌核的構造(圖2)；另有發現透明微菌核之構造(圖2)。

## 三、DSE宿主植物

目前已知DSE之宿主植物約計有114科320屬600多種，包含裸子植物、被子植物、蕨類植物以及其他無維管束植物。甚至在莎草科、十字花科、藜科等傳統非菌根植物中亦可發現DSE之存在。

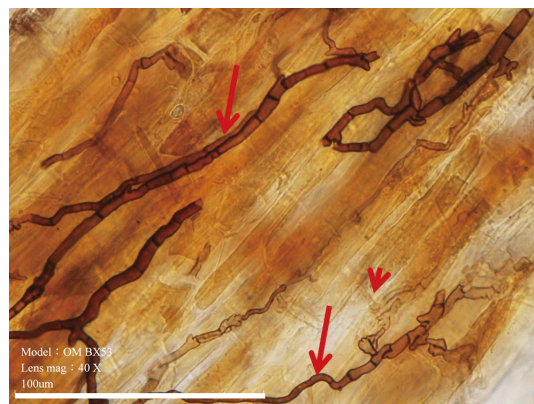


圖1 牛樟染根形態。暗色隔膜菌絲(箭)；透明隔膜菌絲(箭頭)。

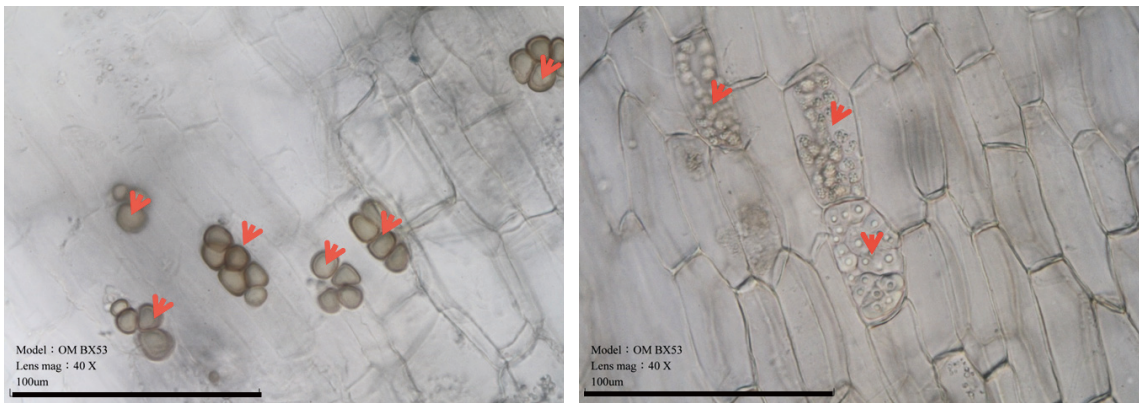


圖2 牛樟接種苗染根形態。CkDB2接種苗之暗色微菌核(左)；CkDB5接種苗之透明微菌核(右)

根據研究顯示，DSE於寒原、高山、亞高山、劣地等生態系統中出現比率相當高。而在農作物、牧草、水生植物、濕地植物、杜鵑花科(Ericaceae)、蘭科(Orchidaceae)均有DSE發現紀錄。甚至在某些寒冷地區之植物並無菌根菌之發現，反而DSE普遍感染於植物根部；因此有學者推測DSE可能具有較高的抗寒能力，並且幫助植物在寒冷逆境下生存。Barrow於1997年指出，在美國西南部的半乾早草原之草本、灌木，DSE之感染率普遍高於較傳統菌根菌。

#### 四、DSE之生態功能

雖然至今為止，DSE之分類尚未有系統的釐清，但因其具有廣泛的宿主範圍和生態分佈，以及在逆境生態系統中的重要作用，引發學者們的關注。而目前也越來越多研究支持，DSE與宿主植物之間具有著重要共生關係，但對於其作用機制仍有許多不解，而其潛在的生態學功能包含：

#### (一)、促進宿主植物生長和養分的吸收

氮(nitrogen)與磷(phosphorus)對於植物而言是一種限制因子，因兩者為植物進行生理作用之關鍵元素。

##### 1. 氮

在自然界中，氮是以有機態氮(organic nitrogen)與無機態氮(inorganic nitrogen)兩種形式存在，然而在土壤中超過90%之氮是屬於有機態氮，例如：胺基酸(amino acid)、蛋白質(protein)、多肽(polypeptides)。有文獻指出DSE能將蛋白質和多肽等植物無法吸收之有機態氮，轉換成植物可吸收的形式，並提供給植物吸收利用；並證實，假如無暗色隔膜內生菌或菌根菌之幫助，則植物之根系無法吸收氮源，而呈現生長不良。

##### 2. 磷

土壤中有許多不溶性之養份元素是植物無法直接利用的，例如磷酸鈣、磷酸鐵等，而此些元素必須在微生物之作用下轉化為無機態，才能被植物根系利用。根據文

獻指出，DSE可分解不溶性之磷元素，並提供給宿主植物利用。Haselwandter and Read(1982)將莎草科(Cyperaceae)植物接種一株未知的DSE，也發現接種後能增加植物體之生物量和莖部磷含量。Jumpponen and Trappe (1998)也將松科植物(*Pinus contorta*)接種DSE菌株(*Phi. fortinii*)，接種後發現植物葉片中之磷含量有增加的效果。Newsham (1999)將*Phi. graminicola*接種至試驗植株，發現植物整體生物量，磷含量及根部氮含量均有增加。

## (二)、提高宿主抗逆境能力

暗色隔膜內生菌與叢枝菌根菌普遍存在於植物體根部，而DSE甚至在極端條件下的植物體中仍能存在，在許多實驗報告中，證實DSE的作用確實有利於宿主植物在逆境環境下的生長和存活。如乾旱地區、高鹽度地區以及富含重金屬土壤地區。然而可惜的是目前對於其抗逆境之機制還尚未清楚。

## (三)、提高宿主抗病能力

目前有許多研究報告顯示，透過DSE菌株之接種，可以保護宿主植物避免病原菌之干擾，以增加植物之抗病能力。Khastini (2012)將大白菜(chinese cabbage) 接種DSE菌株後發現，其可以抑制尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)生長，進而減少枯萎病之發生。此外，有些研究顯示DSE具有誘導植物抗病之功能。Hashiba and Narisawa (2005) 將*Heteroconium chaetospora*菌株接種至大白菜後發現，其能夠誘導大白菜產生抗病系統，以減少細菌性所引起之葉斑病(Leaf spot)產生。

此外，某些非菌根植物，如莎草科、十字花科(Narisawa et al. 2004)、藜科等，由於此類植物並無菌根菌之定殖，而是由DSE這類之微生物取代之，因此有學者推測，DSE在這類植物中亦扮演著生物防治的角色。

## 結語

菌根(mycorrhiza)是普遍林木的根系與真菌互利共生後，所形成的根菌結合體(root-fungi association)。植物提供菌根菌生長所需碳水化合物等營養物質，而菌根菌亦擴增苗木對水分及養分等的吸收能力，從而加速苗木生長。菌根菌對苗木的存活、生長、養分吸收、抗逆境及抗病蟲害等方面的成效，大多僅侷限在叢枝菌根菌及外生菌根菌的研究。但叢枝菌根菌大量繁殖較為受限，要應用於林業界苗圃育苗時，較無法順利推廣；唯獨暗色隔膜內生菌可克服此缺點，不僅繁殖容易，且接種技術更為簡易，倘若林業廣泛利用此類菌株於苗圃育苗上，對於林業單位於克服逆境造林及建構健康優質森林等應屬一大助力。⊗