

玉米種子接種單棲固氮菌對生育及產量的影響¹

林錫錦 簡宣裕 郭鴻裕²

摘要：以選擇性半固體培養基，篩選到本地玉米根圈之三株固氮活性較強及較耐高濃度鉍之革蘭氏陰性短桿狀單棲固氮菌。以不同方法將固氮菌接種於玉米種子，配合不同氮素施用量，進行田間試驗，以觀察單棲固氮菌對玉米生長及產量的影響。74年秋作、75年春作及75年秋作試驗結果，顯示秋作玉米接種效應之產量比春作者好。玉米種子接種單棲固氮菌，不能顯著地增加產量，但能使玉米植株較高大而且抽絲期提早一週，氮素施用量超過 120公斤/公頃則化學氮肥之肥效蓋過玉米種子接種固氮菌之固氮效果，氮素施用量超過 180公斤/公頃時玉米產量就沒有顯著增產效果。玉米根部之固氮活性於幼苗期微弱，隨植株長大而增加，到抽絲期才較高。由於單棲固氮菌不能與玉米的鬚根產生共生或假共生作用，以及試驗結果接種單棲固氮菌於玉米種子，促進玉米生育及產量之功效有限，所以接種單棲固氮菌於禾本科玉米種子以增進作物產量之實際應用上有待突破。

爲了節省能源消耗及環境保護，利用各種土壤微生物協助作物獲取養分^(7,14,15,17)是現代農業研究的目標之一。本試驗室在74年春作玉米，接種由巴西引進之單棲固氮菌 *Azospirillum* spp.^(8,9) 於玉米種子，效果不顯著，推究其原因可能是巴西玉米根圈分離出之 *Azospirillum* spp. 不能適應本地品種、土壤環境及氣候所致⁽⁵⁾。後來本試驗室進行以 N-free malate 之選擇性培養基，篩選本所玉米根部及附近土壤之單棲固氮菌，將篩選到高固氮活性之單棲固氮菌接種於玉米種子，初步田間試驗結果知道可使玉米植株較高大，吐絲期提早一週，但產量不能顯著增加，乃繼續篩選得到三株固氮活性較強及耐高濃度鉍之革蘭氏陰性短桿狀單棲固氮菌，擬接種於玉米種子後播種，希望由固氮菌固定空氣中氮素，提供部分氮養分給玉米利用，以增進玉米生長、產量和減少化學氮肥的施用，節省生產成本和保護農業環境⁽¹¹⁾。

材料與方法

一、單棲固氮菌之篩選：

由本所及附近玉米田取生長期中玉米根部，經切斷後放入半固體 N-free malate 選擇性培養基（表1），繁殖四天後用平板劃線法分離純化出純菌，然後以乙炔還原法^(1,12)測定其固氮活性，選出固氮活性較高之菌株將其接種於含 20ppm NH_4^+-N 之 malate 選擇性培養基中，亦用乙炔還原法測定固氮活性，以篩選出能耐高濃度鉍又具有高固氮活性之菌株。

二、固氮菌之染色及觀察：

菌株於 N-free malate 選擇性半固體培養基中，經24小時培養，取半固體培養基上層白色菌液稀釋，稀釋菌液取一滴置於載玻片上，風乾或熱固定成菌膜，進行下列步驟染色⁽¹⁰⁾：

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告第 1481 號。本研究承行政院農業發展委員會補助，謹此致謝。

2. 本所農業化學系研究員、助理研究員、助理研究員。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

表1. N-free malate 選擇性培養基

Malic acid	5.0 g	KOH	4.5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g	Agar	1.75 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g	Biotin	0.1 mg
NaCl	0.1 g	Fe EDTA (1.6% w/v ^a)	4.0 ml
CaCl ₂	0.02 g	Bromothymol blue (0.5% w/v ^b)	3.0 ml
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.002 g	pH	6.8
MnSO ₄ · H ₂ O	0.01 g		

a. Volume of water.

b. Volume of alcohol.

1. 以 1% 結晶紫 (crystal violet) 浸滲載玻片上之菌膜 1 分鐘。
2. 用間接水流 (Indirect stream of tap water), 洗菌膜 2 秒鐘。
3. 用碘及碘化鉀之混合液, 浸滲菌膜 1 分鐘。
4. 間接水洗菌膜 2 秒鐘, 然後用吸水紙將水分吸走。
5. 菌膜浸滲於 95% 酒精 30 秒, 用吸水紙吸水。
6. 以番紅染液 (Safranin O 2.5%) 浸滲菌膜 10 秒。
7. 以間接水洗菌膜, 直至流出液沒有顏色, 用吸水紙吸乾水分。

將染色好的菌膜玻片置於顯微鏡下, 以油鏡頭觀察菌之形態。

三、接種固氮菌於玉米種子, 對玉米生長、產量影響之試驗:

(一) 菌種之製備:

由玉米根圈分離篩選固氮活性最高且耐鉍態氮之三株固氮菌, 在顯微鏡下之形狀, 以及於 N-free malate 培養基平面培養之菌落的形狀、顏色等均相似, 在試管上以半固體培養基培養之菌, 族群均生長於培養基表面之下, 推測為同一固氮菌, 因此於 N-free malate 培養基培養三天後, 相互混合當做種源。

(二) 田間試驗:

玉米供試品種為臺農 351 號, 試驗採用裂區試驗設計, 以固氮菌接種於玉米種子之方法為主試因, 氮肥施用量為副試因, 試驗處理有四重複, 處理小區面積為 15m × 6m = 90m², 玉米種子皆先催芽 1 天, 每穴二粒玉米種子, 每公頃施用 150 公斤 P₂O₅、100 公斤 K₂O, 磷肥用過磷酸鈣、鉀肥用氯化鉀、氮肥用尿素, 依一般推薦方法進行田間管理。

1. 74 年秋作 (74 年 10 月 5 日播種 75 年 2 月 25 日收穫, 試驗圃為本所 21 號田), 行株距 75cm × 25cm

:

菌種接種於玉米種子方法: (1) 拌播: 每小區, 泥炭土 9.5 公斤和菌種液 6.3 公升相互混合後和玉米種子攪拌。(2) 浸種: 玉米種子浸入菌種液中。(3) 噴種: 每小區噴 6.3 公升菌種液。(4) 對照: 只播種玉米種子及噴同量未接種菌種之培養液。每公頃氮素施用量: (1) 25 公斤。(2) 75 公斤。計 4 × 2 = 8 處理。

2. 75 年春作 (75 年 3 月 12 日播種, 6 月 30 日收穫, 於本所 63 號田試驗), 行株距 75cm × 25cm:

菌種接種於玉米種子方法: (1) 拌種、(2) 浸種、(3) 噴種、(4) 對照, 此四種方法同 74 年秋作, (5) 小區施 9.5 公斤泥炭土。每公頃氮素施用量: (1) 30 公斤、(2) 60 公斤、(3) 120 公斤、(4) 180 公斤。計 5 × 4 = 20 處理。

3. 75 年秋作 (75 年 9 月 16 日種, 76 年 2 月 10 日收穫, 於本所 21 號田試驗, 行株距 75cm × 25cm):

菌種接種於玉米種子方法：(1)拌種、(2)浸種、(3)對照，此三種方法同74年秋作。每公頃氮素施用量：(1)0公斤、(2)30公斤、(3)60公斤、(4)120公斤、(5)180公斤、(6)240公斤，計 $3 \times 6 = 18$ 處理。

結果與討論

一、單棲固氮菌於顯微鏡下之外觀形態：

經乙炔還原法及革蘭氏染色法 (Gram's stain method) 染色篩選到之單棲固氮細菌，於光學顯微鏡之油鏡頭下，可以觀察到所篩選的固氮菌為革蘭氏陰性菌 (Gram's negative bacteria)，短桿狀 (圖 1)。此菌屬於半嫌氣菌 (Facultative bacteria)，於 N-free malate 半固體選擇性培養基之表面下，聚集生長，菌族羣呈現白色。

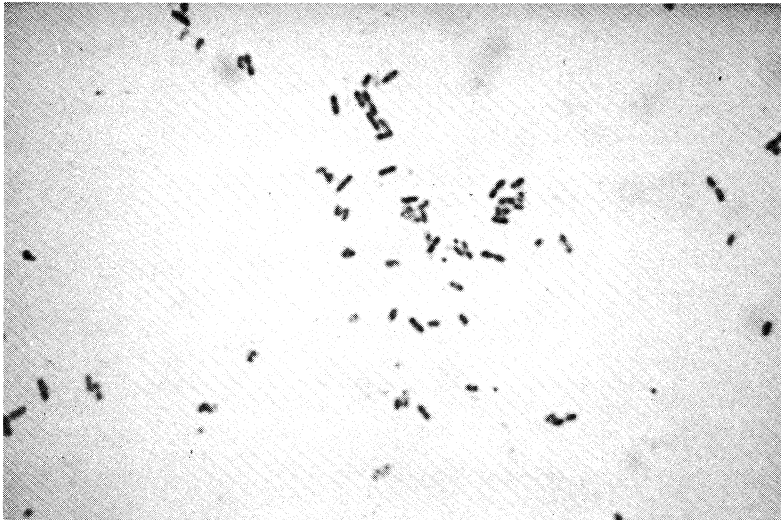


圖1. 由本所玉米根圈分離篩選所得之固氮活性較強及較耐高濃度鉍之單棲固氮菌的顯微鏡下外觀形態 (1000×)

二、玉米種子接種固氮菌對玉米生育及產量的影響：

由圖 2、圖 3、圖 4 可以知道氮素施用量若每公頃少於60公斤，玉米種子接種單棲固氮菌比不接種單棲固氮菌有較高的產量 ($P < 0.05$)，若氮素施用量每公頃超過 120公斤，則接種單棲固氮菌之處理促進玉米產量之效果不顯著，但能使植株較高大，抽絲期提早一週。單棲固氮菌接種於玉米種子之方法對玉米產量的影響，以拌種處理和浸種處理最有利於玉米之生育及產量，其次為噴種處理。因玉米幼苗期根系小，且根分泌物少，提供固氮菌養分有限，所以固氮活性低，以氣相色層分析儀測定固氮活性，測值很小，接近於背景測值 (Background value)，隨著玉米漸漸長大，固氮活性漸漸增加，一直到玉米抽絲期，玉米根部之固氮活性才達到最高，顯示根圈之固氮菌族羣之消長及固氮活性受玉米植株生育之大小所影響，每公頃氮素施用量低於 120公斤時，拌種、浸種、噴種處理之玉米根系比對照處理之根系有較高的固氮活性 (噴種處理每公頃施30公斤氮素者除外)，顯示接種固氮菌於玉米種子可以增加玉米根系固氮活性 (表 2)，但每公頃氮素施用量高於 120公斤時，則接菌處理下之玉米根系固氮活性不比未接菌處理者高，表示每公頃氮素施用量超過 120公斤時，固氮菌固定氮素活性會受抑制，此時接種固氮菌於玉米種子以增進玉米根系固氮活性之效果不好。每公頃氮素施用量低於60公斤時，接種固氮菌處理之玉米產量高於未接菌者 ($P < 0.05$)，可能與根系固氮活性較高有關 (表 2)。拌種處理須要培養菌種外還須要將菌種液和泥炭土拌混成接種源，以及玉米種子和接種源攪拌後才能播種，較費工、費時。噴種處理，將菌種噴灑於玉米植穴之條溝中，菌種易於被土

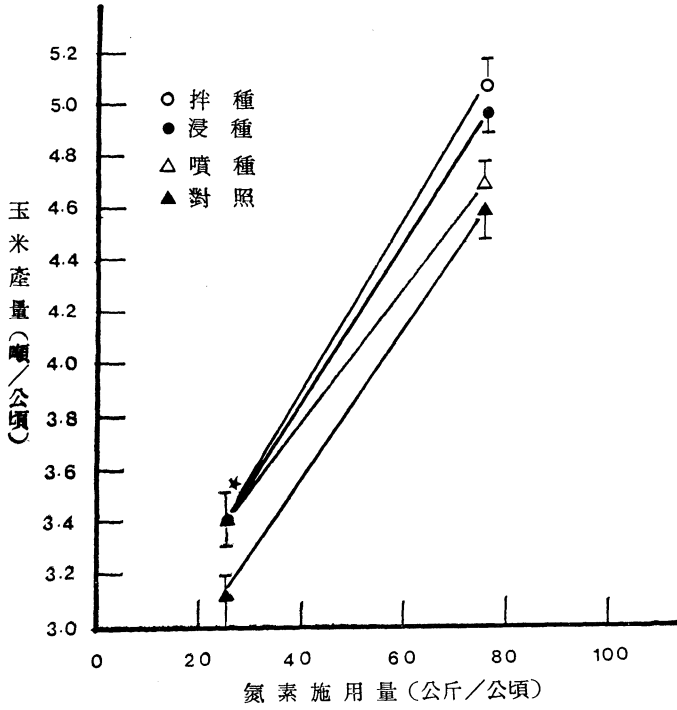


圖2. 固氮菌種接種於玉米種子之方法對玉米產量的影響 (74年秋作)。* : 表示標準偏差。

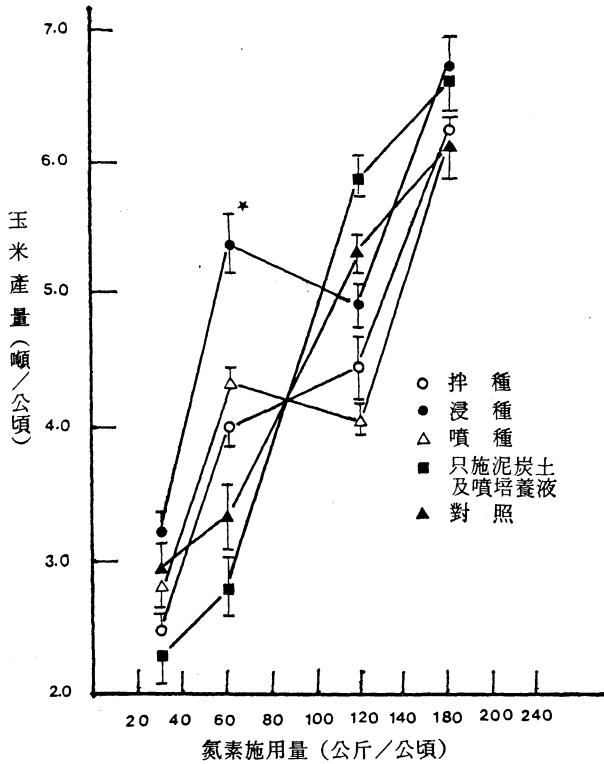


圖3. 固氮菌種接種於玉米種子之方法對玉米產量的影響 (75年春作)。* : 表示標準偏差。

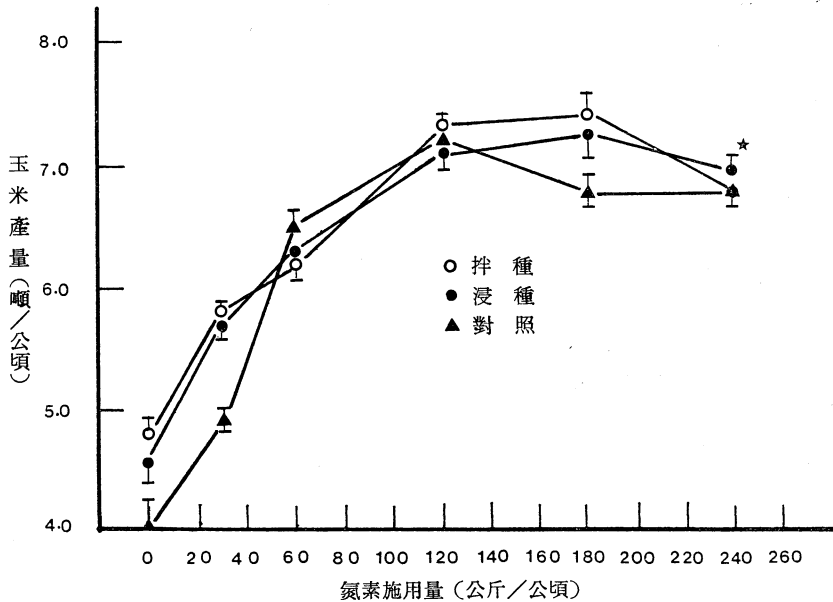


圖4. 固氮菌種接種於玉米種子之方法對玉米產量的影響 (75年秋作)。*：表示標準偏差。

表2. 抽穗初期時玉米根部固氮活性* (n mole N₂ fixed/g fresh root day 75年春作)

菌種接種之方法	氮 素 施 用 量 (公斤/公頃)			
	30	60	120	180
拌 種	131	171	55	17
浸 種	94	136	35	12
噴 種	33	89	34	23
只施泥炭土及噴培 養液	43	103	32	13
對 照	36	73	3	20

* 三重複樣品測值之平均值。

壤吸附及因土壤乾燥而死亡或被土壤中之微小原生動物 (Protozoa) 所吞食，故菌種接種於玉米種子之效率差，而且噴灑工作亦相當麻煩。浸種處理，是將催芽後的玉米種子浸泡菌種液，可能使單棲固氮菌立即被吸附於幼根表面或潛入表皮，再播入田間，可提高菌種接種效率，促進玉米生長、產量之效果與拌種處理者相近，但比拌種處理省工 (圖 2、3、4)。單棲固氮菌雖然可以固定空氣中氮素而加以利用合成細胞成份，但以利用氮素肥料如尿素、硫酸銨等為優先，如果土壤中氮素肥料濃度高時則會抑制單棲固氮菌固定空氣中氮素之能力。⁽⁴⁾ 故由試驗結果 (表 2 圖 3、4) 顯示當每公頃施用氮素量超過 120 公斤時，則土壤中單棲固氮菌之固氮能力便受抑制，而不能有效地促進玉米之生長、產量，化學肥料氮素的肥效蓋過玉米種子接種單棲固氮菌之效果。只施泥炭土及噴施培養基 (表 1) 於土壤中之處理，於每公頃氮素施用量低於 120 公斤時，玉米產量較對照處理者低 (圖 3)，其可能原因是泥炭土是一種含纖維素高之物質，碳氮比大於 30，施加入土壤中可被土壤中之纖維分解菌如 *Chaetomium*、*Aspergillus*、*Trichoderma*、*Cytophaga*、*Cellulomonas* 等⁽⁴⁾ 當做碳源，纖維分解菌活動增加而從土壤中吸收養分，與主作物競爭養分而影響玉米之生長與產量。豆科作物根瘤固氮與禾本科鬚根固氮之差別乃因根瘤菌可以和豆科作物形成共生根瘤，由豆科植物體將碳水化合物

如葡萄糖、蔗糖供給根瘤菌當做碳源以產生能源如 ATP 以及合成胺基酸所需碳架 (Carbon skeleton) 如 Oxaloacetate、Glutamate⁽⁴⁾，而根瘤固氮菌固定空氣中氮素形成胺基酸，部份自用，另一部份則經由共生根瘤供給植物利用，一般而言每固定空氣中氮素 1 mole 需要消耗 1.5moles 葡萄糖⁽¹⁸⁾，單棲固氮菌固定空氣中氮素亦需消耗碳水化合物，每消耗 1g 葡萄糖可固定空氣中氮素 2 至 3mg⁽⁴⁾。由於玉米為鬚根作物，單棲固氮菌未能與鬚根產生共生或假共生 (Pseudosymbiosis，固氮菌潛伏於根部表面)，而且鬚根之分泌物有限，不能供給大量固氮菌族羣繁殖所需之養分，因此即使接種高族羣密度之單棲固氮菌於玉米種子上，但終究會因為缺乏碳源，單棲固氮菌不能增加其族羣密度及固氮活性低，故不能如預期般有效地固定空氣中氮素，供給作物吸收利用⁽⁶⁾。若單棲固氮菌先在實驗室大量培養後，再以適量之蔗糖或葡萄糖當做分散劑 (Carrier)，然後玉米種子在播種前和含有單棲固氮菌之分散劑互相攪拌後，一起施放入土壤中可增加固氮菌族羣繁殖時所需之碳源，或許可以增加土壤固氮活性，或土壤加施有機質以增進土壤中之碳源則比較能增進固氮活性有利於玉米之生長和產量。單棲固氮菌不能和作物根部形成共生狀態或假共生狀態，又單棲固氮菌於細胞內將空氣中的氮素固定為 NH_3 、 NH_3 和 NADPH_2 及 α -ketoglutarate 形成 Glutamate^(13,16)， NH_3 和 Oxaloacetate 形成 Aspartate^(4,13) 然後由 Glutamate 和 Aspartate 分別合成細胞內胺基酸，若要供給作物利用，則須要運出細胞體外，釋放於周遭環境中，但釋出之量有限，大部份還是留在細胞內，而且由細胞直接排出之胺基酸或由細胞死亡後所釋出之胺基酸或氮化合物，須由作物根部再吸收利用⁽⁴⁾，若所釋出之胺基酸或氮化合物，不在植株根部伸展到的地方，則不能被作物吸收利用，不像根瘤共生固氮作用，豆科根部細胞可以在根內將根瘤菌固定氮素合成之 Glutamate 直接吸收轉換成豆科植物細胞內的胺基酸。又因接種單棲固氮菌於玉米種子費時、費工，接種固氮菌於玉米種子對於玉米生育及產量增加有限，因此非共生固氮菌在禾本科鬚根作物之實際應用還有待突破。

三、在接種單棲固氮菌之下玉米氮素適用量的探討：

74年秋作玉米，每公頃施用25公斤氮素時，對照處理與接種處理之玉米產量均無顯著差異 ($P < 0.05$)，圖2) 但接種單棲固氮菌於玉米種子處理之玉米產量比對照處理者高。每公頃施用75公斤氮素時，拌種處理之玉米產量與對照處理者可達顯著差異 ($P < 0.05$)，浸種及拌種處理之玉米產量與對照處理者雖有差異，但統計上不顯著，但浸種處理之玉米生長較噴種處理者較佳。75年春作之試驗設計為探求接種固氮菌下適當氮素用量，故增加氮素用量處理。試驗結果，在接種固氮菌下隨氮素施用量愈高，大致上產量愈好 (圖3)，顯示玉米生育期所需之氮肥主要還是由肥料而來，由固氮菌固氮之貢獻很小。每公頃氮素施用量由30公斤增至60公斤，60公斤增至120公斤，120公斤增至180公斤時，拌種處理下之玉米產量增加百分率分別為60%、10%、41%，浸種處理下之玉米產量增加百分率分別為69%、-9%、37%，噴種處理下之玉米產量增加百分率分別為54%、-7%、53%，只施加泥炭土及培養基處理下之玉米產量增加百分率分別為18%、58%、17%，對照處理下之玉米產量增加百分率分別為18%、58%、17%，而浸種處理、噴種處理下氮素施用量於每公頃60公斤增至120公斤時，玉米產量則有減產現象，其原因可能是受75年春作時雨量太多所影響。75年秋作玉米，玉米種子接種固氮菌的方法為拌種、浸種、對照三處理，氮素施用量等級與75年春作相同，但增加 240Nkg/ha 處理，擬探討在高氮肥施用量及玉米接種固氮菌下是否對玉米之產量還會增產。試驗結果，在接種固氮菌處理下，隨氮素施用量愈高則產量亦愈好圖(4)，但是氮素施用量超過 180kg/ha 則玉米產量有減產的趨勢。每公頃氮素施用量由 0 公斤增至30公斤，30公斤增至 60公斤，60公斤增至120公斤，120公斤增至180公斤，180公斤增至240公斤時，拌種處理下之玉米產量增加百分率分別為21%、7%、18%、1%、-9%，浸種處理下之玉米產量增加百分率分別為9%、29%、13%、1%、-4%，對照處理下之玉米產量增加百分率分別為43%、14%、11%、-7%、0%，在各不同氮素施用量下，菌種接種之方法以拌種比浸種效果好 (圖4)。由上述結果顯示玉米種子接種單棲固氮菌處理下，每公頃氮素施用量介於60至120公斤時最能顯現出接菌效果，每公頃氮素施用量超過180公斤時

對玉米產量的增加有限，而且可能減產，連氏曾測定玉米植株吸收三要素量（穀粒產量為 6.5 噸／公頃），N、 P_2O_5 、 K_2O 分別為 120 公斤、45 公斤、100 公斤至 120 公斤，而推薦中南部適當玉米氮肥用量為 165 公斤（3.）。臺農 351 號玉米種子發芽後，幼苗生長與養分吸收均緩慢，但此期之生長卻十分重要，因為平均每 3 天要長出一片新葉，而葉面積決定了玉米的生產量潛力，且植株生長旺盛根部之分泌物才能提供單棲固氮菌繁殖所需養分，若水分太多，土壤太潮濕，土壤通氣不良，則減低發芽率及抑制早期生長，也因而影響了根圈微生物固氮菌族羣的生長，而影響到每株穗數及每穗種子數、產量（2），故玉米播種後 30 天之土壤水分狀態，是影響玉米產量很重要的因素之一。74 年秋作時，降雨量少，在玉米生育期間，雖然有高達 80mm 及 35mm 之遽雨性日降雨量，但只有 2 天而已，而且是在玉米種子播種後第 80 天、第 130 天（圖 5.），75 年秋作時，雖然播種後第 4 天有高達 92mm 日降雨量，第 60 天有 49mm 日降雨量（圖 7.），但亦屬於遽雨性降雨量，雨水在很短時間就可以排掉，玉米田浸水時間很短。故 74 年、75 年秋作玉米時，土壤狀態大部分時間是通氣良好，不會對根圈微生物、固氮菌族羣等造成逆境，亦不會對玉米的生長、產量造成阻礙性的影響。然而 75 年春作玉米時，玉米種子播種後除了 2 天沒有下雨，持續下了 23 天的雨，此段期間表土土壤呈現幾近飽和狀態，又播種第 61 天後亦連續下了幾近一個月的雨（5 月 19、24 及 6 月 2、3、10 除外，圖 6），使得 75 年春作時，玉米田表土之水分含量常保持於飽和或幾近飽和狀態，土壤通氣不良而缺氧，因土壤中氧的分壓低於 1.5% 會抑制作物生長⁽¹⁹⁾，造成種子發芽率不好，幼苗生長受抑制，又因為固氮菌族羣之增殖須靠玉米根部分泌物之增加而增加⁽⁴⁾，當雨水多時玉米幼苗生育不好，根部之分泌物少，根圈之固氮活性亦因而減少，使得植株生長較緩慢，產量減少。74 年秋作玉米、75 年秋作玉米產量比 75 年春作玉米產量高的原因，可能是由上述春作、秋作降雨量分配型態不同、氣候不同、根圈微生物及固氮菌族羣之生長、病蟲害感染率不同等所造成的。在臺灣，春作期間恰好是春雨綿綿及梅雨季，對於旱作玉米而言是非常不利的生長抑制因素，再加上春作潮濕而易罹患病害，故 75 年春作玉米產量偏低。

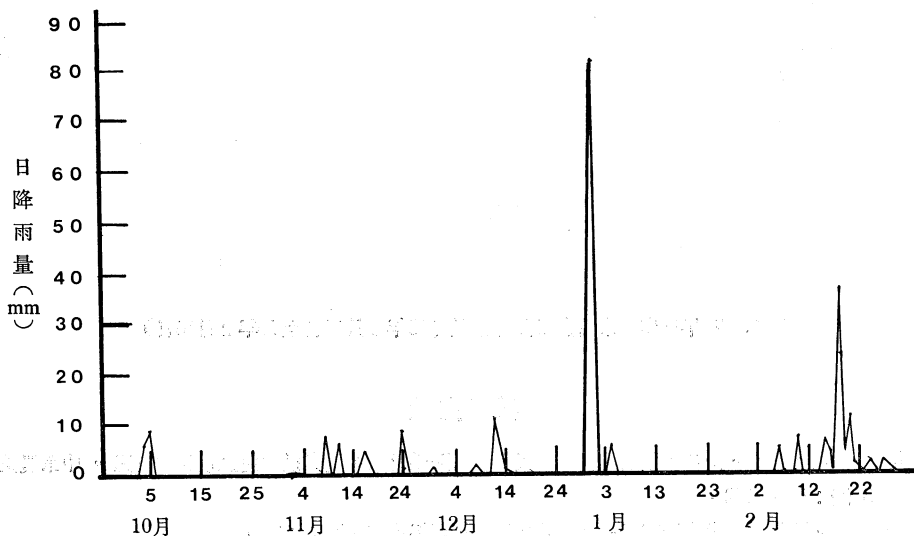


圖 5. 74 年秋作玉米時之田間降雨量 (74 年 10 月 5 日至 75 年 2 月 25 日)

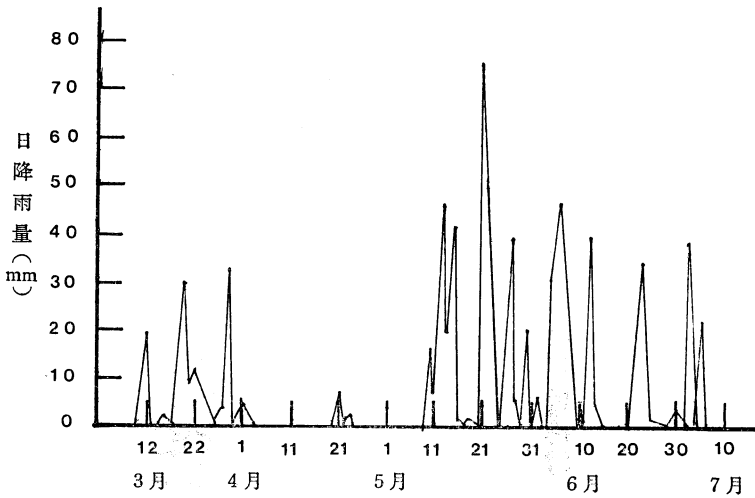


圖6. 75年春作玉米時之田間降雨量 (75年3月12日至75年6月30日)

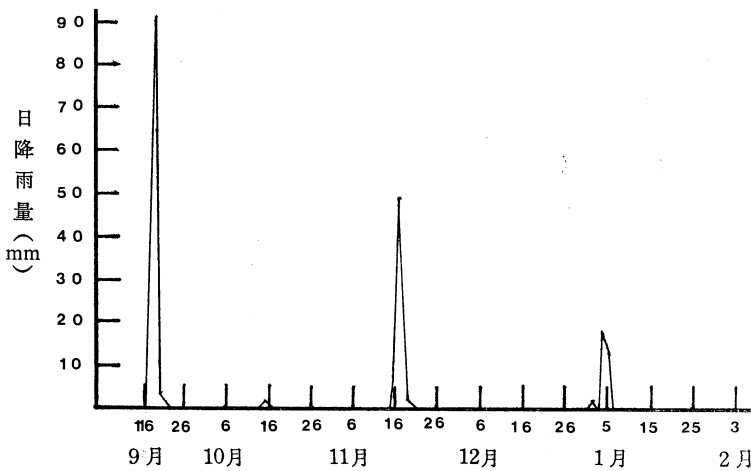


圖7. 75年秋作玉米時之田間降雨量 (75年9月16日至76年2月10日)

參考文獻

1. 林錫錦、簡宣裕。1985。落花生根瘤固氮活性與產量之關係及品種間與根瘤菌之親和性研究。中華農業研究。34(2): 164—172。
2. 呂宗佳。1984。單雜交玉米臺農三五—號及其栽培法。豐年雜誌。34(7): 34。
3. 連深。1986。轉作玉米肥料需要量與土壤肥力之關係。中華農業研究。35(3): 138—334。
4. 林良平。1978。土壤微生物學。天然書社出版 P. 113-128。
5. Baldani V. L. D. and Döbereiner J. 1980. Host-plant specificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp. Soil Biol and Biochem. 12: 433-439.
6. Beck S. M. and C. M. Gilmour. 1983. Role of wheat root exudates in associative nitrogen-fixation. Soil Biol and Biochem. 15: 33-38.

7. Dellweng, H. 1983. Biotechnology. Volume 3. Verlag Chemie GmbH, D-6940 Weinheim. P. 217-232.
8. Döbereiner, J., and J. M. Day. 1974. Associative symbiosis in tropical grasses: characteristics of microorganisms and dinitrogen fixing sites. International symposium on N₂-fixation-Interdisciplinary Discussions. Washington State University, Pullman, June 3-7.
9. Döbereiner, J., J. M. Day, and P. J. Dart. 1973. Nitrogenase activity in the rhizosphere of sugar cane and some other tropical grasses. Plant and Soil 37 : 191-196.
10. Doetsch, R. N. 1981. Determinative methods of light microscopy. American Society for Microbiology. Washington, D. C. 20006. P. 26-27.
11. Dommergues, Y., G. Balandreau, G. Rinaudo, and P. Weinhard. 1973. Non-symbiotic N₂-fixation in the rhizospheres of rice, maize and different tropical grasses. Soil Biochem. 5 : 83-89.
12. Hardy, R. W. F., R. D. Holsten, E. K. Jackson and R. C. Burns. 1968. The acetylene-ethylene assay for N₂-fixation: laboratory and field evaluation. Plant Physiol. 43 : 1185-1207.
13. Mandelstam, J. and K. McQuillen. 1973. Biochemistry of bacterial growth. Published by John Wiley and Sons company in New York. P. 160-229.
14. Mertens T. and D. Hess. 1984. Yield increase in spring wheat inoculated with *Azospirillum lipoferum* under greenhouse and field conditions of temperate region. Plant and Soil 2 : 87-89.
15. Okon Y. 1985. *Azospirillum* as a potential inoculant for agriculture. Trends in Biotechnology 3, 223-227.
16. Singleton Paul and Diana Sainsbury. 1978. Dictionary of Microbiology. Published by John Wiley and Sons company in New York. P. 270-271.
17. Sloger C. and L. D. Owens. 1978. Field inoculation of cereal crops with nitrogen-fixing *Spirillum lipoferum*. Plant Physiol. 61, Suppl. 2.
18. Summerfield R. J. and A. H. Bunting. 1978. Advance in legume science. Volume 1 of the proceedings of the international legume conference, Kew, 31 July - 4 August held under the auspices of Royal Botanic Garden, Kew, the Missouri Botanical Garden, and the University Reading. P. 86-87.
19. Tisdale, S. L. and W. L. Nelson. 1975. Growth and the factors affecting it Soil fertility and fertilizers. Third Edition. P. 44-49.

The Effect of Inoculating Corn Seed with Free-Living Nitrogen-Fixing Bacteria on the Growth and Yield of Corn¹

C. J. Lin, S. Y. Jane and H. Y. Kuo

Summary

Three strains of free-living nitrogen-fixing bacteria with high nitrogenase activity and ammonium tolerant ability were screened from corn root and its adjacent soil and cultured by N-free malate semi-solid selective medium. With different nitrogen application rates, the effect of inoculation of these free-living nitrogen-fixing bacteria on corn growth and yield were carried out in the field experiments during Autumn crop, 1985 to Autumn crop, 1986.

The results showed that corn seed inoculated with the free-living nitrogen-fixing bacteria could increase corn growth and promote the silking stage one week earlier, but could not significantly increase the grain yield of corn. When nitrogen application rates were above 120kg/ha, the plant growth and grain yield of corn were prevailed by fertilizer nitrogen than the effect of nitrogen-fixation; the suitable nitrogen application rate was 180kg/ha, the rewarding efficiency would be decreased if nitrogen application rates were above this level. Nitrogen-fixation rate of the excised young corn root was very low. Nitrogenase activity of the corn root was accompanied by the plant growth, and its highest activity was in the initial silking stage. Because free-living nitrogen-fixing bacteria can not build a symbiotic or pseudosymbiotic relationship with hairy roots of gramineous corn crop, and the results of the experiments showed that inoculation of the free-living nitrogen-fixing bacteria on corn seed could not significantly increase the corn yield; therefore the breakthrough the bottle neck of practical application of inoculating free-living nitrogen-fixing bacteria on gramineous crop remained to be studied.

-
1. Contribution No. 1431 from the Taiwan Agricultural Research Institute. This study was sponsored by the Council of Agricultural Planning and Development, R. O. C.
 2. Senior Soil Microbiologist, Ass'tant Agricultural Chemist, Ass'tant Agricultural Chemist of the Dept. of Agri. Chem., respectively. Taiwan Agricultural Research Institute, Wu-Feng Taiwan, R. O. C.