

接種期對叢枝菌根菌繁殖與溫度對孢子發芽之影響¹

莊明富² 程永雄^{2,3}

摘 要

莊明富、程永雄。2005。接種期對叢枝菌根菌之繁殖與溫度對孢子發芽之影響。台灣農業研究 54:184-194。

百喜草每隔兩週接種叢枝菌根菌，進行為期一年的菌種繁殖調查，供試菌種有 *Glomus aggregatum* (Ga)、*G. etunicatum* (Ge)、*G. mosseae* (Gm) 及 *Acaulospora scrobiculata* (As)。結果顯示四個菌種除 As 外，全年接種均可感染並形成菌根，As 在 5-9 月接種，菌根形成率較高，其餘時期接種則感染甚低或未感染。百克土孢子數較高之接種時期，Ga 在 1-4 月，Ge 在 1-4 月及 8-9 月，Gm 在 5-10 月，As 則在 5-9 月中，這些期間接種，平均各菌種百克土之孢子(堆)數，分別為 54、4024、1019 及 2010。此外，利用孔徑 0.45 μ m 過濾膜包埋孢子並置於河砂中，調查其在 20、24、28 及 32 $^{\circ}$ C 定溫箱中之發芽情形，結果顯示 Ga 與 Ge 適於發芽的溫度範圍較廣(20-32 $^{\circ}$ C)，但兩者仍有差異，Ga 在 28、32 $^{\circ}$ C 有較高的發芽率，Ge 則在 20、24 及 32 $^{\circ}$ C，兩者隨著溫度增高，得到最大發芽率所需的時間隨之縮短；Gm 適宜發芽溫度在 28 $^{\circ}$ C，但是 20 與 32 $^{\circ}$ C 下仍可發芽，As 適宜發芽溫度也在 28 $^{\circ}$ C，但其在四種溫度下，發芽情形均不甚理想。在 20 $^{\circ}$ C 下，隨著培養時間延長到 42 天，並不會提高孢子發芽率，因此 15 天的培養時間已經足夠。由上述結果可知，除了 As 外，其餘三個菌種全年不同時期接種，均可感染宿主形成菌根，可能是適宜孢子發芽之溫度範圍較廣，而 As 除了溫度外，可能還有其他重要因子影響其發芽，有待進一步研究。

關鍵詞：叢枝菌根菌、繁殖、溫度、發芽。

前 言

叢枝菌根菌(Arbuscular mycorrhizal fungi)原先分類上屬於接合菌綱(Zygomycetes)、繡球菌目(Glomales)的真菌 (Morton & Benny 1990)，Schüßler 等人(2001)在真菌界的壺菌門、接合菌門、子囊菌門及擔子菌門，單獨設立一門 Glomeromycota，以容納此類真菌，並分成兩目、五科共七屬，目前已命名的叢枝菌根菌約有一百五十餘種。菌根是此類真菌感染植物根系所形成的共生性構造，菌根的形成有助於植物吸收土壤中的養分(主要是磷)與水分，增進植物的生長，提高植物對乾旱、鹽分的抵抗力，以及增強植物對病害的抗、耐病力(Dehne 1982; Smith 1988; Augé 2001; Koide & Mosse 2004)。

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2237 號。接受日期：94 年 9 月 27 日。
2. 本所嘉義農業試驗分所助理研究員、研究員兼分所長。臺灣省 嘉義市。
3. 通訊作者，電子郵件：cyh@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05)2773630。

叢枝菌根菌為絕對共生真菌，無法以人工培養基繁殖，盆栽法(Open pot culture)(Gilmore 1968)為接種原繁殖提供了解決的方法，也開啟叢枝菌根菌研究的重要一步。盆栽法生產之接種原包括孢子、根外菌絲、感染根段，對 *Glomus* 與 *Acaulospora* 屬，都是有效的接種原，但 *Gigaspora* 與 *Scutellospora* 屬，孢子為其主要的接種原(Klironomos & Hart 2002)。An 等人(1993)田間研究結果，認為秋天至早春叢枝菌根菌主要繁殖體(Propagules)為孢子，然而春天孢子發芽以後，繁殖體主要是菌絲，直到秋天新孢子產生，顯示溫帶地區孢子形成與季節有關，楊氏(1997)使用八種宿主植物繁殖 *G. mosseae*, *Gigaspora gigantea* (Gig)及 *G. fasciculatum* (Gf)，顯示三個菌種最佳產孢季節在夏季。孢子產量高低與繁殖用宿主種類也有關(楊 1997；Struble & Skipper 1988；Simpson & Daft 1990)，吾等(莊&程 1999)研究也顯示不同繁殖宿主，*G. mosseae* 孢子產量有別，其中除了宿主種類的因素，繁殖時期可能也有關係。主要影響叢枝菌根菌繁殖的因子甚多(王&陳 1997；Siquerira *et al.* 1985)，可歸納為生物與非生物因子，叢枝菌根菌繁殖從孢子發芽，發芽管生長、附著到侵入，菌根生長，到孢子的形成，各個環節影響因子也可能有別，但是孢子發芽是整個繁殖序幕的開始，決定後續繁殖成功與否。溫度對孢子發芽之影響，許氏(1990)比較 *G. etunicatum*, *G. mosseae*, 及 *G. fasciculatum* 等菌種，顯示在 28°C 培養 7-10 天孢子發芽率可達最高。影響孢子發芽除了一些外在因子，尚有內在因子—孢子休眠(Dormancy)，Tommerup(1983)比較四種叢枝菌根菌，發現供試菌種初形成的孢子有休眠性，菌種間休眠期長短也不同，Juge 等人(2002)利用 4°C 低溫層積(Stratification)可縮短 *G. intraradices* (Gi)的休眠期，層積時間延長也會改變發芽管的生長模式，4°C 冷藏方式也有助於提高孢子發芽率(許 1990)，因此本研究探討叢枝菌根菌適合發芽溫度，供試菌種均經過一年以上的儲存，以排除孢子休眠之影響，並以過濾膜(0.45µm)作為測定發芽的方法(呂 1994)。臺灣位於熱帶與亞熱帶地區，叢枝菌根菌產孢狀況與產孢量是否與接種時間有關，是本研究探討之目標。

材料與方法

叢枝菌根菌接種原之來源與繁殖

4 種供試叢枝菌根菌 *Glomus aggregatum* (Ga), *G. etunicatum* (Ge), *G. mosseae* (Gm)及 *Acaulospora scrobiculata* (As)，係自田間採集、分離及純化。純化後之菌種繁殖於百喜草或玉米等宿主植物，接種後 14 週取出根圈土，陰乾、裝袋後置於 4°C 冷藏庫保存，菌種每年進行一次更新繁殖。

叢枝菌根菌全年不同接種期對繁殖之影響

供試百喜草種子於播種前經 0.5%次氯酸鈉消毒 5 分鐘，水洗三次後陰乾，再撒播於裝有 3 l 消毒河沙(80°C 一小時蒸氣消毒, pH 7.34)之 7 吋盆鉢上，每個盆鉢 30 顆種子(發芽率>70%)，播種後每盆施用 7.5g 三號奧妙肥(N:P:K=18:5:11)，再覆蓋消毒泥炭苔，供試宿主每隔兩週準備一批，進行為期一年之叢枝菌根菌繁殖調查。百喜草發芽後，4 種叢枝菌根菌菌土以濕篩法洗出孢子(Gerdemann & Nicolson 1963)，分別於解剖顯微鏡下，以玻璃吸管各吸取 30 個孢子或 5 個孢子堆，分別放入 1.5ml 之微量離心管內。接種時先在宿主根圈土表面挖 5 個洞，再以吸管吸取孢子懸浮液平均滴入進行接種，接種後再將洞口覆蓋並澆水。本試驗每一菌種各接種 5 盆，植株於簡易塑膠布隧道式網室中管理。接種後 14 週，以採土器(內徑 2.8cm)在每盆植株根圈土各採集三個土柱，混合於同一塑膠袋中。採集之根圈土，根系部分經透化染色後(Phillips & Hayman 1970)，調查並計算菌根形成率，根圈土則以濕篩法洗出孢子，調查百克土壤之孢子數。試驗年度之溫、溼度，是以溫溼度記錄器(HOBO pro RH/Temp logger Accuracy: ±0.4°C in standard resolution mode)進行紀錄，紀錄間隔設定為 30 分鐘一筆。

溫度對孢子發芽之影響

取出 4 種叢枝菌根菌 *Glomus aggregatum*, *G. etunicatum*, *G. mosseae* 及 *Acaulospora scrobiculata* 之菌土，分別以濕篩法分離孢子，再於解剖顯微鏡吸取孢子，置放於 0.45 μ m 孔徑過濾膜上(Durapore membrane, hydrophilic PVDF, 0.45 μ m, 47mm, Millipore Co., USA)，每一過濾膜各放置 30 個孢子或孢子堆，將過濾膜兩次對折後以濾紙包住，埋入已吸水之 7 吋盆裝消毒河沙(pH 7.34)中，再置於 20, 24, 28 及 32 $^{\circ}$ C 之定溫箱中。每隔 4, 7, 9, 11, 13 及 15 天，由定溫箱的盆鉢中，各取出一片過濾膜，以 0.5% Trypan blue 將孢子、發芽管染色，於解剖顯微鏡下觀察孢子發芽情形並紀錄發芽數(呂 1994; Phillips & Hayman 1970)。另外，單獨測定 20 $^{\circ}$ C 下，四個菌種之孢子發芽情形，取樣調查以週為單位，至包埋後第六週為止，各菌種每週由盆鉢中各取出一片過濾膜，經染色後觀察並紀錄發芽數。

結 果

Glomus aggregatum 與 *G. etunicatum* 在 2001 年不同接種期之繁殖情形

G. aggregatum 與 *G. etunicatum* 在 2001 年全年不同時期接種，調查結果如圖 1，供試兩個菌種在當年的 1-4 月間接種(平均氣溫 21.6 \pm 6.7 $^{\circ}$ C)，14 週採收時可以獲得較多的孢子，其中 Ga 百克土孢子(堆)數最高可達 95，Ge 則有 8738。其次是 8-9 月間接種(平均氣溫 26.8 \pm 3.3 $^{\circ}$ C)，在此期間接種，孢子數量較 1-4 月接種者為低，其中 Ga 百克土孢子(堆)數最高可達 35，Ge 則為 5324。5 至 7 月(平均氣溫 27.2 \pm 2.7 $^{\circ}$ C)以及 10-12 月(平均氣溫 20.5 \pm 6.8 $^{\circ}$ C)接種者，孢子數量偏低，Ga 甚至未有孢子產生。Ga 除了 11-12 月接種，菌根形成率較低外，大致維持在 40-70%之間，Ge 之菌根形成率，則呈現不規則變化，範圍則在 20-80%之間，而兩菌種之菌根形成率高低與孢子數量多寡並無相關性。

Glomus mosseae 與 *A. scrobiculata* 在 2002-2003 年不同接種期之繁殖情形

G. mosseae 與 *A. scrobiculata* 在 2002-2003 年一整年間，不同時期之繁殖調查結果如圖 2，Gm 全年不同時期接種，均可感染且形成菌根，惟在 2-4 月間接種，菌根形成率偏低，孢子數量較高之接種期，在 5-10 月間(平均氣溫 27.2 \pm 3.4 $^{\circ}$ C)，百克土孢子數最高可達 1624，而 11 月到隔年 4 月間接種(平均氣溫 20.5 \pm 6.6 $^{\circ}$ C)，雖然菌根形成率高，但是孢子數量偏低。As 在 5-9 月間(平均氣溫 27.5 \pm 3.2 $^{\circ}$ C)接種比較容易感染及產孢，百克土孢子數最高可達 5248，10 月到隔年 4 月間接種(平均氣溫 20.9 \pm 7 $^{\circ}$ C)，菌根形成率偏低甚至不感染，因此也無孢子產生。此兩菌種之菌根形成率高低與孢子數量多寡無相關性。

四種叢枝菌根菌在不同溫度下之發芽調查

四種叢枝菌根菌 Ga, Ge, Gm 及 As 之孢子，在 20, 24, 28 及 32 $^{\circ}$ C 定溫箱中，經 4, 7, 9, 11, 13 及 15 天之培養，各菌種孢子發芽情形如圖 3。在 20, 24, 28 及 32 $^{\circ}$ C 下，Ga 最高發芽率分別為 9.5, 28, 59.1 及 65.4%，各出現在第 15, 11, 11 及第 4 天；Ge 分別為 37.5, 46.7, 23.5 及 60%，各出現在第 13, 11, 11 及第 15 天，惟 Ge 在 32 $^{\circ}$ C 第 9 天，孢子發芽率已達 43.8%；Gm 孢子在 24 $^{\circ}$ C 皆未發芽，20 $^{\circ}$ C 下僅在第 11 天有 4.5%孢子發芽，在 28 $^{\circ}$ C 下第 7-15 天皆有孢子發芽，其中發芽率以第 7 天之 23.1%最高，32 $^{\circ}$ C 下以第 9 天之 20%最高；As 孢子發芽僅見於 24 與 28 $^{\circ}$ C，孢子發芽率分別為 3.3 與 25%，各出現於第 11 與第 13 天。四個菌種之孢子，在 20 $^{\circ}$ C 定溫箱培養，每週取樣調查，至包埋後第 6 週為止，各菌種之孢子發芽情形如圖 4，由結果可知，各菌種在 20 $^{\circ}$ C 之發芽率，並不會隨著較長時間的培養而提高其發芽率。供試四個菌種之孢子發芽如圖 5，發芽管均為雙叉分枝，Gm 在發芽管之間會有囊泡(Vesicles)形成。

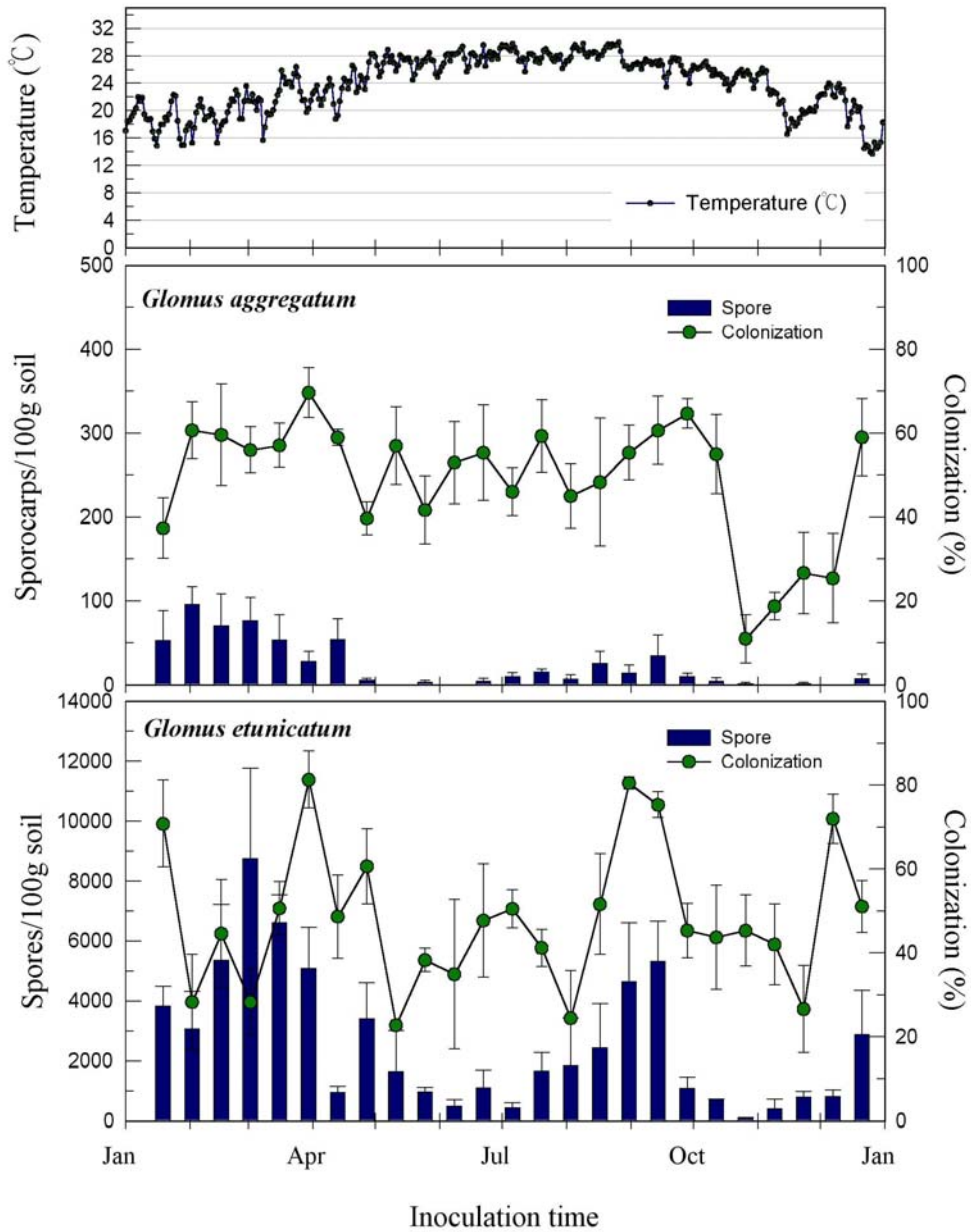


圖 1. 接種期對 *Glomus aggregatum* 與 *G. etunicatum* 在盆栽百喜草產孢之影響。

Fig. 1. Effect of inoculation time on spore production of *Glomus aggregatum* and *G. etunicatum* on bahiagrass in pot culture in 2001 (Bars indicate standard error).

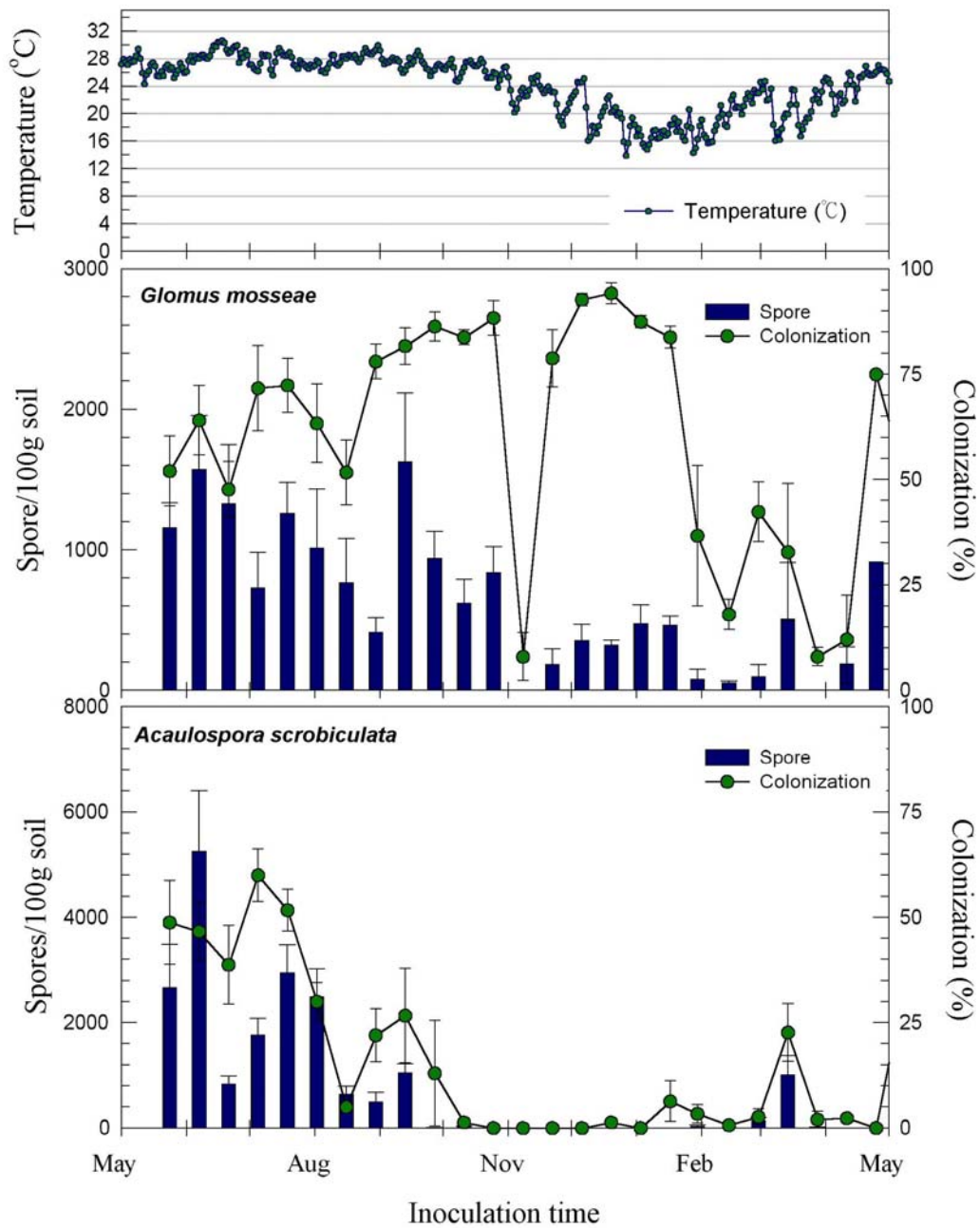


圖 2. 接種期對 *Glomus mosseae* 與 *Acaulospora scrobiculata* 在盆栽百喜草產孢之影響。
Fig. 2. Effect of inoculation time on spore production of *Glomus mosseae* and *Acaulospora scrobiculata* on bahiagrass in pot culture in 2002-2003 (Bars indicate standard error).

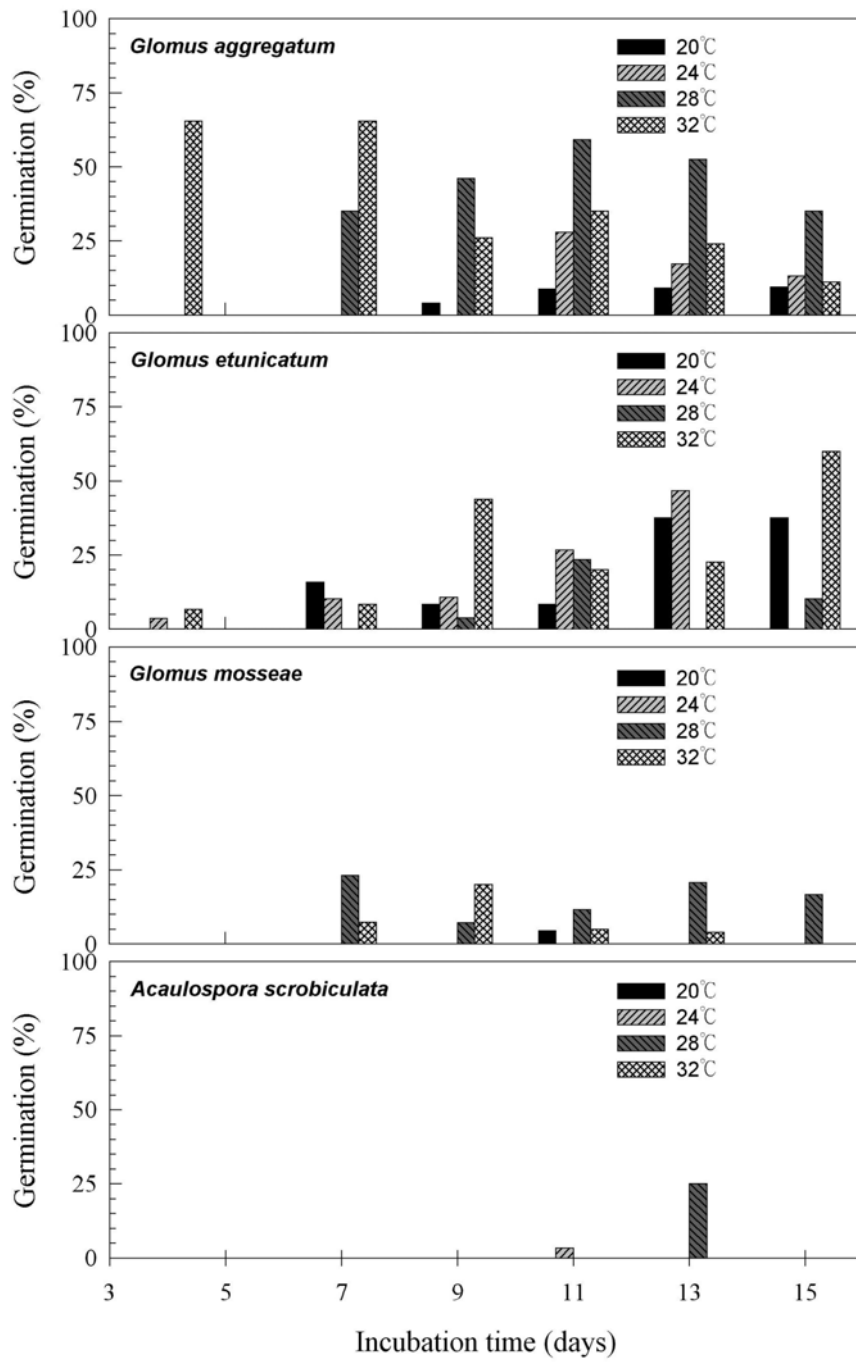


圖 3. 溫度對四種叢枝菌根菌孢子發芽之影響。

Fig. 3. Effect of temperature on spore germination of 4 species of arbuscular mycorrhizal fungi in laboratory for 15 days.

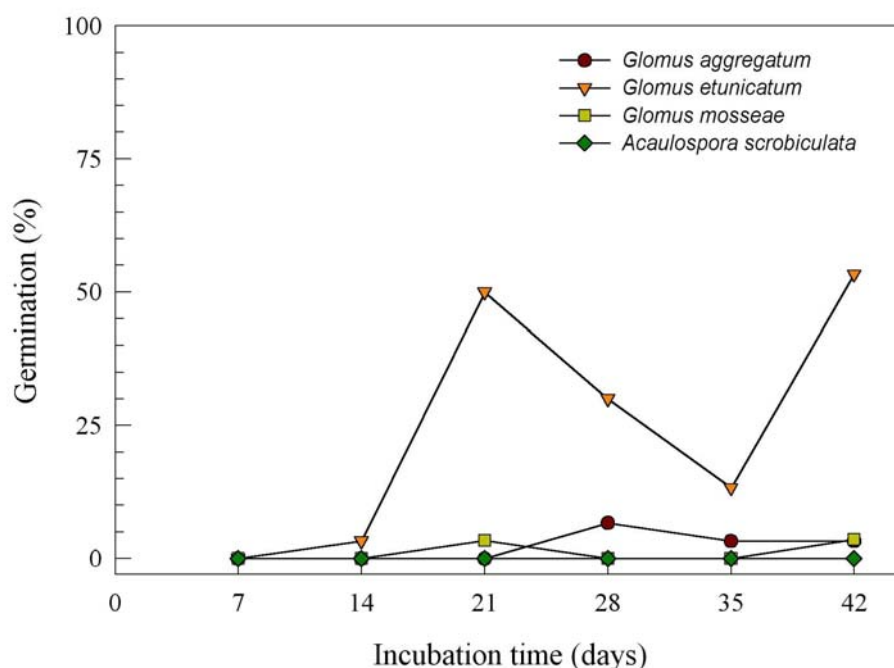


圖 4. 溫度對四種叢枝菌根菌在 42 天培養時間之孢子發芽影響(20°C)。

Fig. 4. Effect of temperature on spore germination of 4 species of arbuscular mycorrhizal fungi in laboratory for 42 days (20 °C).

討 論

叢枝菌根菌 Ga, Ge, Gm 及 As 孢子產量，隨接種時期之不同而有差異，以月份區分，產孢量較高的接種月份，Ga 在 1-4 月，Ge 在 1-4 月及 8-9 月，Gm 在 5-10 月，As 則在 5-9 月中，但是除了 As 外，其餘三個菌種幾乎整年均可繁殖並產生孢子，其差異僅是孢子量多寡之分，此與 An 等人(1993)之田間調查報告，認為秋天主要繁殖體才是孢子有些許不同，可能叢枝菌根菌繁殖有地理上的差異，屬於熱帶與亞熱帶的臺灣，菌種產孢受季節之影響，不似溫帶地區明顯，而與菌種本身有關，因為供試四個菌種中，Gm 與 As 兩者在夏季時的產孢量最高，而楊氏(1997)供試之三個菌種 Gm, Gf 及 Gig，顯示最佳產孢季節亦在夏季；另外可能原因在於盆栽與田間試驗的差異，盆栽方式對宿主生長有其侷限性，容易在養份與空間上造成宿主生長的限制，間接促使叢枝菌根菌產生孢子以保存後代。

一般而言生物在遇到逆境(Stress)時，傾向於繁衍後代以保存族群，叢枝菌根菌面對逆境可能亦有相同現象，而逆境的種類有氣候、土壤及宿主等。由於叢枝菌根菌為共生性真菌，菌根形成可以幫助宿主吸收土壤中的養分，叢枝菌根菌則自宿主獲得有機物質而持續生長，兩者維持穩定的平衡，形成共生關係，但是當逆境來臨，叢枝菌根菌為了繁衍後代，必然須由宿主擷取較多養份，以供其產孢之用。不同菌種每百克土壤可產生最多孢子數，除了來自宿主養分的供給量外，菌種本身孢子大小也是決定因素之一，在供試四個菌種中，Gm 孢子最大，每百克土孢子數最高僅達 1624，其次是 As，每

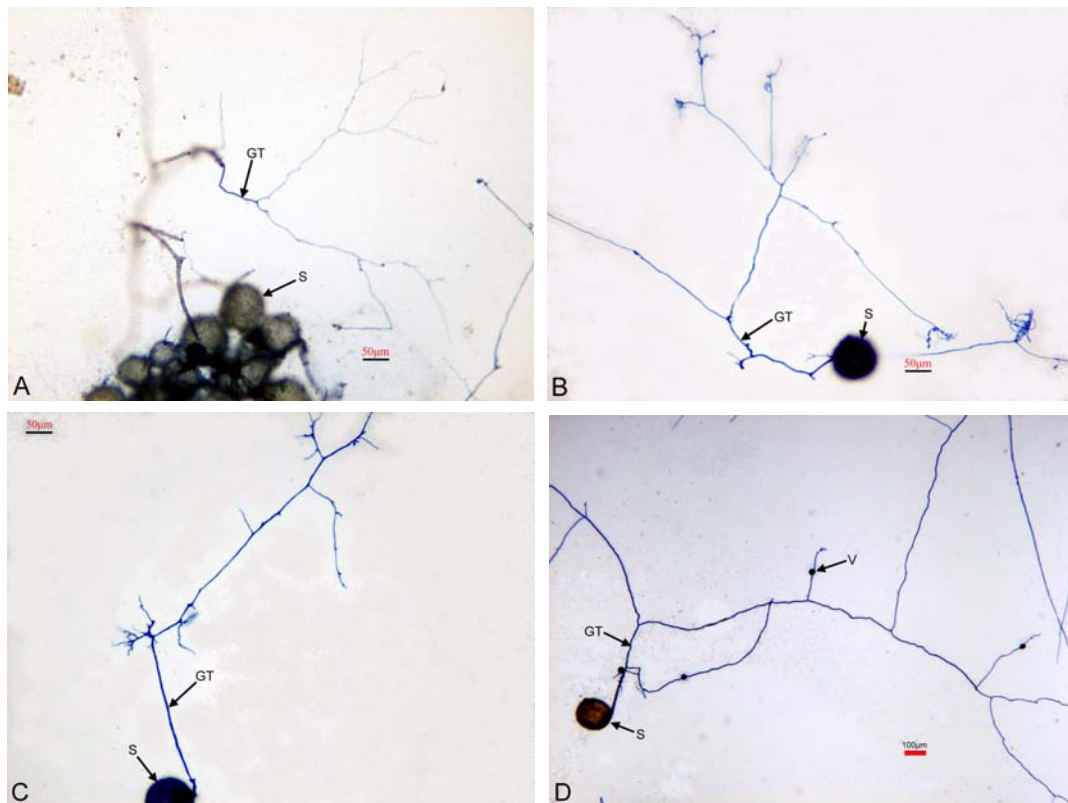


圖 5. 四種叢枝菌根菌之孢子發芽情形。A: *Glomus aggregatum*, B: *Acaulospora scrobiculata*, C: *G. etunicatum*, D: *G. mosseae*, 箭頭英文標示分別為 S 孢子, GT 發芽管, V 囊泡。

Fig. 5 Spore germination of 4 AM fungi. S : Spore ; GT : Germination tube ; V : Vesicle ; A: *Glomus aggregatum* ; B: *Acaulospora scrobiculata* ; C: *G. etunicatum* ; D: *G. mosseae*.

百克土孢子數最高可達 5248，孢子較小的 Ge，每百克土孢子數最高可達 8738，Ga 雖然是供試菌種中孢子最小，每百克土孢子堆最高可達 95，但是每個孢子堆的孢子數可從數十到數百個不等，加上根段內常有許多孢子存在，因此其孢子總產量應高於 Ge。除了宿主、叢枝菌根菌菌種影響孢子產量之外，由叢枝菌根菌孢子發芽、侵入、菌根生長到產孢，環境條件亦是重要的影響因子，如土壤肥力、酸鹼值與氣候因子等，因此不同的叢枝菌根菌菌種在宿主、環境等因子相互作用下，可能各有最適產孢時期與最大孢子產量，能夠瞭解影響每個菌種產孢的條件，應可提高孢子產量。吾等以玉米繁殖 Gm，每盆接種 50 個孢子，探討整個生育期孢子量的變化，顯示接種後第 7 週孢子出現，而後逐漸增加，至接種後第 11-12 週達到最高，然後逐漸降低(莊&程 1999)，但是收穫期可能隨著宿主、菌種及環境等條件不同而改變，本研究將採收期固定在接種後第 14 週，並無法反映每個菌種在不同繁殖時期真正產孢量，且初次接種源用量對宿主植物產孢量有正相關(楊 1997)，但提高初次接種源用量，是否可縮短菌種達到產孢高峰期則有待證明，本研究使用之初次接種源數量為 30 個孢子或 5 個孢子堆可能偏低，加上各菌種孢子發芽率的高低不同，真正可以發芽感染並侵入的初次感染源可能更低，其結果可能延長菌根發展及達到最高產孢量的時間。

影響叢枝菌根菌繁殖的因子很多，溫度即是其中之一，從孢子發芽、發芽管生長、侵入、菌根形成到孢子產生，可能都有最適的溫度範圍，Siqueira 等人(1985)認為叢枝菌根菌孢子對溫度表現出生理適應(Physiological adaptation)，如孢子發芽適溫會隨地區而有不同。臺灣位處熱帶、亞熱帶，叢枝菌根菌孢子發芽適溫，理論上應該偏高，而吾等所比較的四個叢枝菌根菌，在 20, 24, 28 及 32°C 下，顯示 Ga 與 Ge 發芽溫度範圍較廣，但在 32°C 可以在較短時間達到較高的發芽率，Gm 雖然適宜發芽溫度範圍稍窄，但在 28°C 下 7 天也有 23.1% 的發芽率，頗為吻合上述生理適應的說法，而 As 發芽試驗結果較為特殊，可能尚有其他重要因子與孢子發芽有關，有待進一步探討，而發芽管的萌發除了 As 外，其餘三菌種均由孢子(堆)柄萌發(圖 5)，Ge, Gm 發芽管分枝情形與小囊泡形成，與許氏(1990)與呂氏(1994)之描述情形相符。利用濾膜表面發芽法測定叢枝菌根菌孢子發芽，具有簡單快速的優點(呂 1994)，但是孢子未經消毒，因此挑取之孢子雖然外觀看似完整，但在觀察發芽時，可見這些無法發芽的孢子均已崩解，另外在較高測試溫度下，濾膜表面有許多生長旺盛的微生物，可能間接或直接影響孢子發芽及發芽管的生長，此種情形可在過濾膜滴上 PVLG(Polyvinyl-Lacto-Glycerol)，除去其上生長的雜菌以幫助觀察；由於上述之因素，造成部分發芽率調查結果產生缺值情形，因此叢枝菌根菌孢子表面的微生物，可能也是影響發芽的因素之一。溫度除了影響孢子發芽外，對於發芽管生長、侵入及菌根發展，可能都有其最適溫度範圍，Smith & Roncadori (1986)比較三種叢枝菌根菌在四種土壤溫度下之反應，及其對棉花生長之影響，發現土溫在 18°C 感染率皆低於 10%，土溫在 24°C 或以上，棉花菌根形成率在 57-80% 之間，而比較吾等四個叢枝菌根菌接種期試驗結果，Ga 在一到十月間接種者，菌根形成率在 40-70%，Ge 全年不同時間接種者，菌根形成率在 20-80%，Gm 在五月到隔年一月間接種者，菌根形成率在 50% 以上，As 在十月到隔年四月間接種者，菌根形成率低於 25% 以下，且多數情形是未感染，由電子溫溼度紀錄器所得資料顯示，五月到十月日平均溫度在 24°C 以上，十一月至隔年四月日平均溫度在 24°C 以下，顯示吾等所用菌種，在日均溫高於 24°C 以上，比較有利於菌根發展。許多研究報告顯示，菌根形成率高低與孢子產量間並無相關性，由表 1, 2 顯示，菌根形成率高者，孢子數並非最高，可能與固定 14 週採樣調查有關，在吾等(莊&程 1999)報告中，以玉米繁殖 Gm，每隔一週採樣調查，顯示菌根形成率與孢子數均在第 11 週達到最高，因此兩者間可能仍存在正相關性，而一些報告認為兩者間並無相關性，原因可能在採樣點的選擇，這個菌根形成率與產孢量最高的採樣點，可能也會隨菌種、宿主種類及環境條件而改變。

誌 謝

本文文稿完成後，承蒙美國夏威夷大學植病系柯文雄教授對英文摘要之斧正，特此致謝。

引用文獻

- 王均琍、陳昇明。1997。影響繡球孢子屬叢枝內生菌根菌孢子萌芽之因素。中華真菌學會會刊。12:109-116。
- 呂斯文。1994。囊叢枝菌根菌之無土介質接種、接種源生產及菌種篩選研究。國立台灣大學園藝學研究所博士論文。p.70-89。
- 許書國。1990。三種囊叢枝菌根菌之孢子發芽試驗；綠蘆筍新雜交品系之生長評估與菌根反應。國立台灣大學碩士論文。127 pp.。
- 莊明富、程永雄。1999。泥炭苔對叢枝菌根菌繁殖之影響。中華農業研究。48:64-70。

- 楊坤忠。1997。叢枝菌根菌接種源之大量生產與在四種果菜上之應用。國立台灣大學碩士論文。135 pp。
- An, Z. Q., B. Z. Guo, and J. W. Hendrix. 1993. Populations of spores and propagules of mycorrhizal fungi in relation to the life cycles of tall fescue and tobacco. *Soil Biol. Biochem.* 25:813-817
- Augé, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11:3-42.
- Dehne, H. W. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology* 72:1115-1119.
- Gerdemann, J. W. and T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet-sieving and decanting. *Trans Br. Mycol. Soc.* 46:235-244.
- Gilmore, A. E. 1968. Phycomycetous mycorrhizal organisms collected by open-pot culture methods. *Hilgardia* 39:87-105.
- Juge, C., J. Samson, C. Bastien, H. Vierheilig, A. Coughlan, and Y. Piché. 2002. Breaking dormancy in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*: a critical cold-storage period. *Mycorrhiza* 12:37-42.
- Klironomos, J. N. and M. M. Hart. 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza* 12:181-184.
- Koide, R. T. and B. Mosse. 2004. A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza* 14:145-163.
- Morton, J. B. and G. L. Benny. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37:471-491.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Schüßler, A., D. Schwarzott, and C. Walker. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105:1413-1421.
- Simpson, D. and M. J. Daft. 1990. Spore production and mycorrhizal development in various tropical crop hosts infected with *Glomus clarum*. *Plant and Soil* 121:171-178.
- Siqueira, J. O. D. M. Sylvia, J. Gibson, and D. H. Hubbell. 1985. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Microbiol.* 31:965-972.
- Smith, G. S. and R. W. Roncadori. 1986. Responses of three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi at four soil temperature and their effects on cotton growth. *New Phytologist* 104:89-95.
- Smith, G. S. 1988. The role of phosphorus nutrition in interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with soilborne nematodes and fungi. *Phytopathology* 78:371-374.
- Struble, J. E. and H. D. Skipper. 1988. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spore production as influenced by plant species. *Plant and Soil* 109:277-280.
- Tommerup, I. C. 1983. Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 81:37-45.

Effects of Inoculation Timing on Spore Production and Temperature on Spore Germination of Arbuscular Mycorrhizal Fungi¹

Ming-Fuh Chuang² and Yung-Hsiung Cheng^{2,3}

Summary

Chuang, M. F. and Y. H. Cheng. 2005. Effects of inoculation timing on spore production and temperature on spore germination of arbuscular mycorrhizal fungi. J. Taiwan Agric. Res. 54:184-194.

Bahiagrass roots were inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus aggregatum* (Ga), *G. etunicatum* (Ge), *G. mosseae* (Gm) and *Acaulospora scrobiculata* (As) every two weeks for one year, and spores of these fungi placed on membrane filters were embedded in sterilized sand and incubated at 20, 24, 28 or 32°C. Results show that all three species of *Glomus* were capable of infecting bahiagrass roots and forming mycorrhiza all the year. However, As was able to form good mycorrhiza only when bahiagrass root were inoculated in May-September. When inoculation was performed in the other months of the year, mycorrhizal formation by this fungus was very poor or not at all. Inoculation periods favorable to spore production were January-April for Ga, January-April and August-September for Ge, May-October for Gm, and May to mid September for As. In these periods, average numbers of spores per 100g soil produced by Ga, Ge, Gm and As were 54, 4024, 1019 and 2010, respectively. The temperature range suitable for germination was broader (20-32°C) for Ga and Ge. High germination rates occurred at 28, 32°C for Ga, and 20, 24 and 32°C for Ge. As the temperature increased, the time needed for obtaining high germination rate decreased. The optimum temperature for spore germination of Gm and As was 28°C, but germination rates were low for As at the four temperatures tested. Our results show that the three species of *Glomus* tested can infect bahiagrass roots and produce spores all the year due to their broad temperature range for spore germination. Factors required for high germination rate of As remain to be investigated.

Key words: Arbuscular mycorrhizal fungi, Propagation, Temperature, Germination.

1. Contribution No.2236 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: September 27, 2005.

2. Respectively, Assistant Research and Director, Chiayi Agricultural Experiment Station, ARI, Chiayi, Taiwan, ROC.

3. Corresponding author, e-mil: cyh@dns.caes.gov.tw; Fax: (05)2773630.