



公開

密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：010202M100

## 行政院農業委員會苗栗區農業改良場109年度科技計畫研究報告

計畫名稱： 蔬果類作物芽孢桿菌胺基酸微生物肥料之開發 (第1年/全程1年)  
(英文名稱) Development of Bacillus Amino Acid Microbial Fertilizer for Vegetable and Fruit Crops

計畫編號： 109農科-1.2.2-苗-M1

全程計畫期間：自 109年1月1日 至 109年12月31日

本年計畫期間：自 109年1月1日 至 109年12月31日

計畫主持人： 朱盛祺

執行機關： 行政院農業委員會苗栗區農業改良場



1091744



### 一、執行成果中文摘要：

已篩選之微生物"新菌種"MLBV19-3具優異的溶磷、溶鉀活性，經食品工業研究所菌種鑑定為 貝萊斯芽孢桿菌*Bacillus velezensis*，並進行30年專利寄存及全基因定序，5公噸大型工業生產發酵槽SOP量產製程已開發，並完成冷凍乾燥量產製程，可生產 $5 \times 10^9$ CFU/ml菌數的粉劑。進一步完成G L P口服與肺呼吸急毒性之動物毒理試驗中英文報告，齊備芽孢桿菌胺基酸微生物肥料登記要件一份。益生菌胺基酸肥料配方已完成調製二式(試量產各50公斤)，田間肥效試驗進行兩種草莓品種(香水與戀香)、胡瓜及青椒田間試驗，結果以稀釋1000倍處理組表現最優異。

### 二、執行成果英文摘要：

The selected microorganism "new strain" MLBV19-3 has excellent phosphate and potassium dissolving activities. The strain was identified as *Bacillus velezensis* by the Institute of Food Industry, and it has been patented for 30 years and the whole gene is sequenced. , The SOP mass production process of 5 metric tons of large-scale industrial production fermentation tank has been developed, and the freeze-drying mass production process has been completed, which can produce  $5 \times 10^9$ CFU/ml powder. Further complete the Chinese and English reports of the animal toxicology test of GLP oral and pulmonary respiratory toxicity, and prepare a copy of the registration requirements for Bacillus amino acid microbial fertilizer. The formulation of the probiotic amino acid fertilizer has been prepared. The second formula (50 kg each for trial mass production) has been completed, and the field fertilizer efficiency test has been carried out on two strawberry varieties (perfume and loxexiang), courgette and green pepper. The results are diluted by 1000 times. The most excellent.

### 三、計畫目的：

為推廣安全高品質農業，提升高經濟農作物品質，擬開發芽孢桿菌胺基酸微生物肥料，測試應用於草莓及瓜果類作物開花結果期之成效，期望藉此朝向提高產量、品質(特級果比例)、香氣及風味等，以利於高經濟作物上之特色產品銷售。

### 四、重要工作項目及實施方法：

1. 篩選微生物"新菌種"以溶磷、溶鉀及促進植物生長等微生物肥料功能為主要篩選標的，並利用13L桌上型發酵槽數批次的最適化量產條件。
2. 全基因定序保護菌種智慧財產權、食品工業研究所菌種30年專利寄存、食工所菌種鑑定報告，對於未來商品化菌種具有完整的專利智財保護。



1091744



3. 試驗添加麩醯胺酸、麩胺酸、天門冬胺酸、天門冬醯胺酸做為合成各類胺基酸之前體；生合成花青素苷和類黃酮的前體之苯丙胺酸和酪胺酸來提高草莓顏色與抗氧化物質。
4. 甲硫胺酸做為轉移至呋喃酮醇之甲基來源提高草莓典型香氣；異白胺酸增加草莓增甜效應之香氣；精胺酸提升草莓品質；甘胺酸，色胺酸亦有助於作物產量及品質提升。育苗期肥料開發可增加甘胺酸量促進草莓走莖生長增加育苗產量。上述應胺基酸型態應以左旋為主才利於生物體吸收與利用。
5. 定植後30 天測試施用葉酸稀釋50 倍有助於提升草莓產量和品質(可溶性固形物、還原糖、可滴定酸、花青素、酚類和維生素C.)
6. 試驗採完全逢機區集設計(RCBD)，A處理:益生菌胺基酸微生物肥料500倍、B處理:益生菌胺基酸微生物肥料1000倍、B處理:益生菌胺基酸微生物肥料2000倍、D處理:化學微生物肥料1000倍處理組、E處理:不施用對照組 等 五處理，四重複，每重複 15 株。株距 25 cm，栽種密度 5000 株/分地。
7. 產量及品質：依 Kaya et al. (2002)等報告，其調查方法如下：(1) 產量：以每粒 6 g 以上之商品果為準。(2) 果實品質：單粒鮮重、糖度、果長及果寬等，並就(3)各處理組之生產經濟效益比較。

## 五、結果與討論：

1. 已篩選到微生物"新菌種"MLBV19-3(台灣物種名彙編號:422896)具溶磷、溶鉀及促進植物生長等微生物肥料功能，溶磷活性達1117.3 ug/ml/day、溶鉀活性達25.0 ug/ml/day，完成食品工業研究所菌種鑑定為貝萊斯芽孢桿菌*Bacillus velezensis*，並完成食工所30年專利寄存，另外委託基龍米克斯公司完成"全基因定序"，以保護菌種智財權。
2. 益生菌胺基酸肥料配方已完成調製二式(試量產各50公斤)，成份分析報告1式詳如附件，生長肥(AG)成分為N:29%、P:9.5%、K:6.5%、結果肥(AF)成分為N:3.5%、P:8.5%、K:19%
3. 利用益生菌胺基酸微生物肥料樣品，進行兩種草莓品種(香水與戀香)測試，比較不同處理對草莓(香水品種)外觀性狀(鮮果重量)與品質性狀(糖酸比)之結果，以稀釋2000倍及稀釋1000倍處理組表現最優異，與未施用對照組 C K 經統計分析達顯著差異(附件圖一、圖二)；另外，比較不同處理對草莓(戀香品種)外觀性狀(鮮果重量)之結果。以稀釋500倍、稀釋1000倍及稀釋2000倍處理組，與未施用對照組 C K、D處理:化學微生物肥料1000倍處理組均達顯著差異(附件圖三)；比較不同處理對草莓(戀香品種)品質性狀(糖酸比)之結果，以稀釋500倍、稀釋1000倍、稀釋2000倍處理組及D處理:化學微生物肥料1000倍處理組，與未施用對照組 C K 經統計分析達顯著差異(附件圖四)。
4. 比較不同處理對胡瓜、青椒產量之肥效試驗，結果以 A 配方胺基酸益生菌微生物肥料稀釋1000倍處理組與 B 配方胺基酸益生菌微生物肥料稀釋1000倍處理組表現最優異，與未施用對照組 C K 於小區平均產量上均有顯著差異，惟 A 配方略優於 B 配方(附件圖五)。
5. 比較不同處理對番茄產量及品質糖度之肥效試驗結果，同樣以以 A、B 配方胺基酸益生菌微生物肥料稀釋1000倍處理組與未施用對照組 C K 於小區平均產量、鮮果糖(甜)度上均有顯著差異，惟 A 配方同樣略優於 B 配方(附件圖六)。





6. 完成芽孢桿菌MLBV19-3菌種5公噸大型工業生產發酵槽量產製程，並完成冷凍乾燥量產製程，可生產 $5 \times 10^9$ CFU/g菌數的粉劑，儲存於室溫8個月，菌數仍可達平均 $5 \times 10^9$ CFU/g。
7. 完成G L P口服與肺呼吸急毒性之動物毒理試驗中英文報告，齊備芽孢桿菌胺基酸微生物肥料登記要件一份。

## 六、結論：

1. 已篩選到微生物新菌種MLBV19-3(台灣物種名彙編號:422896)具溶磷、溶鉀活性，經食工所菌種鑑定為 貝萊斯芽孢桿菌*Bacillus velezensis*，並完成30年專利寄存及全基因定序。
2. 益生菌胺基酸肥料配方已完成調製二式(試量產各50公斤)，田間肥效試驗進行兩種草莓品種(香水與戀香)、胡瓜及青椒田間試驗，結果以稀釋1000及2000倍處理組表現最優異。
3. 比較不同處理對胡瓜、青椒產量及番茄產量、品質糖度之肥效試驗結果，A 配方胺基酸益生菌微生物肥料稀釋1000倍處理組表現最優異，可供商品化技轉登記商品化應用。
4. 完成芽孢桿菌MLBV19-3菌種5公噸大型工業生產發酵槽量產製程，並完成冷凍乾燥量產製程，可生產 $5 \times 10^9$ CFU/g菌數的粉劑，儲存室溫8個月，菌數仍可達平均 $5 \times 10^9$ CFU/g。
5. 完成G L P口服與肺呼吸急毒性之動物毒理試驗中英文報告，齊備芽孢桿菌胺基酸微生物肥料登記要件一份。

## 七、參考文獻：

1. Ulrich D, Olbricht K. A search for the ideal flavor of strawberry—comparison of consumer acceptance and metabolite patterns in *Fragaria* × *ananassa* Duch. *J Appl Botany Food Qual.* 2016;89:223 - 234.
2. Zhang J, Wang X, Yu O, Tang J, Gu X, Wan X, Fang C (2011) Metabolic profiling of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) during fruit development and maturation. *J Exp Bot* 62: 1103 - 1118.
3. Pérez A. G., Olías, R., Luaces, P., and Sanz, C., 2002, Biosynthesis of strawberry aroma compounds through amino acid metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 4037 - 4042.
4. Yang X, Feng L, Zhao L, Liu X, Hassani D, Huang D, 2018, Effect of glycine nitrogen on lettuce growth under soilless culture: a metabolomics approach to identify the main changes occurred in plant primary and secondary metabolism., *J Sci Food Agric.* Jan;98(2):467-477.
5. Nishanthi, S. and Sutharsan, S., 2018. Effect of Integrated Use of L-Tryptophan and Chemical Fertilizer on Growth and Yield Performances of Radish (*Rhaphanus sativus* L.). *AGRIEAST: Journal of Agricultural*





- Sciences, 11(2), pp.27 – 33.
6. Galili S, Amir R, Galili G. 2008. Genetic engineering of amino acid metabolism in plants. *Advances in Plant Biochemistry and Molecular Biology* 1, 49 – 80.
  7. Perez AG, Rios JJ, Sanz C, Olias JM. 1992. Aroma components and free amino acids in strawberry variety Chandler during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 2232 – 2235.
  8. Yilmaz, K.U. and Yaman, M. (2016). The effects of different chemicals on yield and quality of 'Sweet Ann' strawberry nursery plants grown in Cappadocia Region – preliminary results. *Acta Hort.* 1139, 559-564.
  9. Fariba Mohseni, Zahra Pakkish, Bahman Panahi., 2017, Arginine Impact on Yield and Fruit Qualitative Characteristics of Strawberry., *Agriculturae Conspectus Scientificus*, Vol. 82 No. 1, 19-26.
  10. Lavid N.; Schwab W.; Kafkas E.; Koch-Dean M.; Bar E.; Larkov O.; Ravid U.; Lewinsohn E. Aroma biosynthesis in strawberry: S-Adenosylmethionine:Furaneol O-methyltransferase in ripening fruits. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 4025 – 4030.
  11. Singh D., Kumar S., Verma RS, Maurya R. and Shukla A., 2018, Effect of organic manure and bio-fertilizers on quality parameters of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Chandler, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* ;7(6): 1227-1228.
  12. Raeisi J., Pakkish Z. and Saffari V.R., 2017, Efficiency of Folic Acid in Improving Yield and Fruit Quality of Strawberry, *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 7(1): 15-25.
  12. Kaya C., D. Higgs, K. Saltali, and O. Gezerel. 2002. Response of strawberry growth at high salinity and alkalinity to supplementary potassium. *J. Plant Nutr.* 25: 1415-1427.





## 109年度農業科技產學合作計畫合作業者意見回饋表 (本表請由合作業者填寫)

計畫名稱：蔬果類作物芽孢桿菌胺基酸微生物肥料之開發

合作業者：台灣肥料股份有限公司

**1. 請貴單位就本計畫參與情形進行說明（包含執行工作項目、與研究單位互動.....等等）**

本公司已於本年度1月16日完成簽約，並派遣2名員工前往行政院農業委員會苗栗區農業改良場進行試驗討論胺基酸肥料添加種類與含量，且定期前往勘查試驗進度。

**2. 請貴單位就本計畫執行進度及產出是否符合預期進行評估：**

達成目標

尚未達成目標，仍待加強處說明：

進度如期完成胺基酸微生物肥料配製，並已調整胺基酸種類含量進行試驗。

**3. 結案後技轉意願(僅 109 結案計畫需填寫)：**

即可洽談，期望\_\_\_\_\_年授權完成

尚待評估，預計\_\_110\_\_年再議

無意願，請說明原因：\_\_\_\_\_

其他建議：

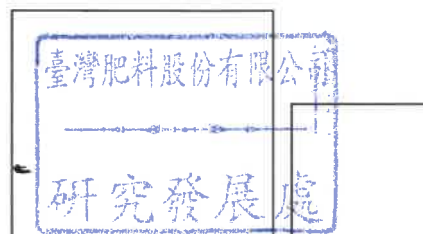
因草莓為跨年度作物，故需等栽培期結束後，視整體效果再行評估。

填表人（簽章）

 研究發展處 吳鴻均

合作業者（大小章）

填表日期：109年11月30日



1091744



## 110年農業科技產學合作計畫審查意見回應表

計畫研提     期中審查     期末審查

計畫名稱：蔬果類作物芽孢桿菌胺基酸微生物肥料之開發(109 農科-1.2.2- 苗-M1)

執行單位：苗栗區農業改良場

合作業者：臺灣肥料股份有限公司

計畫主持人：朱盛祺 副研究員兼分場長

項次	審查意見	回應及辦理情形	修正頁次
1	請補充說明本計畫芽孢桿菌胺基酸微生物肥料之原料、製程、成品劑型及適用地區。	已修正於期中摘要報告。 本計畫芽孢桿菌胺基酸微生物肥料之原料: 芽孢桿菌+胺基酸+特殊配方調配製程、成品劑型:主成分為 N:1.4%、P:10.2%、K:14.9%高磷鉀粉劑及適用台灣各地區多種作物土壤。	期中摘要報告 p. 2
2	應明確訂定本配方之 N、P、K 最終標準。	芽孢桿菌胺基酸微生物配方之 N、P、K 最終標準為2種，生長肥: N:29%、P:9.4%、K:7.0%；結果肥: N:3.8%、P:9.0%、K:19%	期末報告 p. 2
3	建議應建立各種胺基酸測定方法。	胺基酸測定方法建置中，未來將列為產品自主管理項目。	

備註：本表不敷使用請自行增列

10903版



1091744



## 110年農業科技產學合作計畫審查意見回應表

計畫研提  期中審查  期末審查

計畫名稱：蔬果類作物芽孢桿菌胺基酸微生物肥料之開發(109 農科-1.2.2- 苗-M1)

執行單位：苗栗區農業改良場

合作業者：臺灣肥料股份有限公司

計畫主持人：朱盛祺 副研究員兼分場長

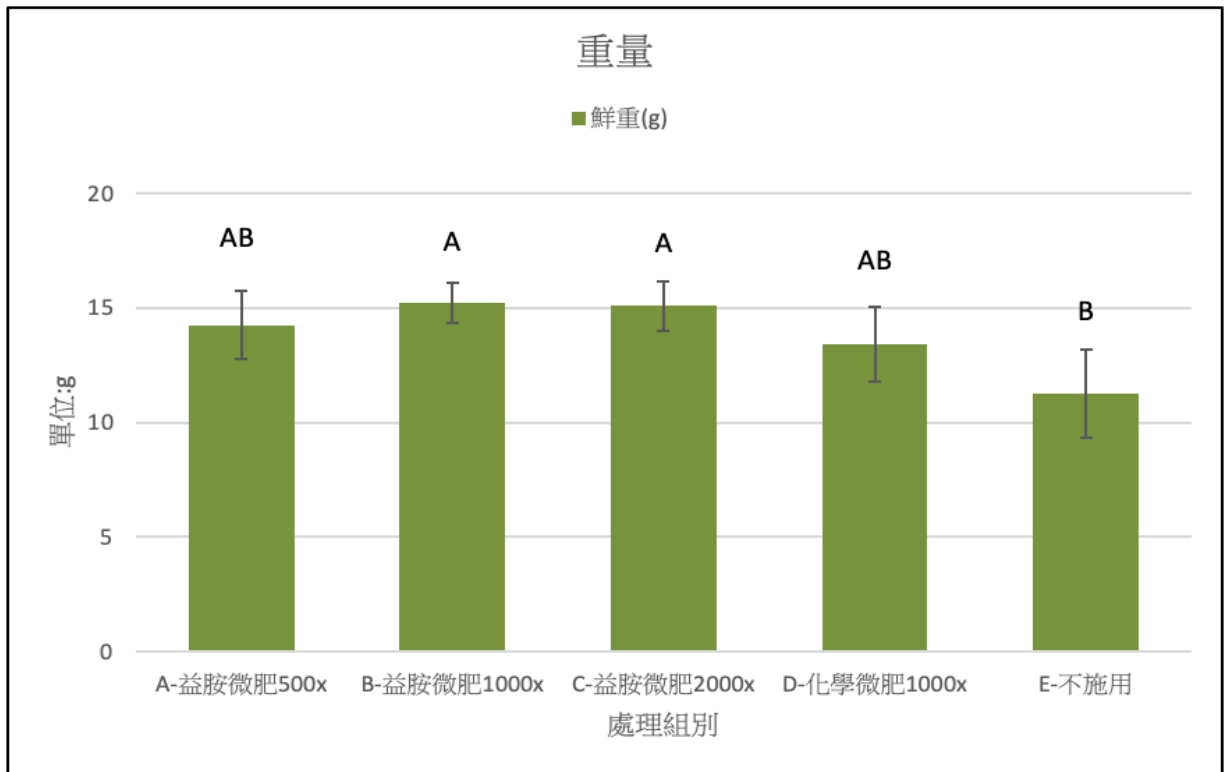
項次	審查意見	回應及辦理情形	修正頁次
1	請將試驗過程、試驗數據及分析資料詳細補充於報告內，並請確認試驗數據之正確性。	已修正於期末研究報告。 試驗過程詳見期末研究報告 p. 2之重要工作項目及實施方法；試驗數據及分析資料詳細補充於報告 P8-10。	試驗過程詳見期末研究報告 p. 2； P8-10
2	建議本計畫開發之菌種標示「臺灣物種名錄」編號。	新菌種 MLBV19-3(台灣物種名彙編號:422896)	期末研究報告 p. 2
3	請修正粉劑描述表達方式。	已修正為生產 $5 \times 10^9$ CFU/g 菌數的粉劑	期末研究報告 p. 2
4	請於報告內補充冷凍乾燥菌粉貯存安定性測試相關說明。	儲存於室溫8個月，菌數仍可達平均 $5 \times 10^9$ CFU/g	期末研究報告 p. 2

備註：本表不敷使用請自行增列

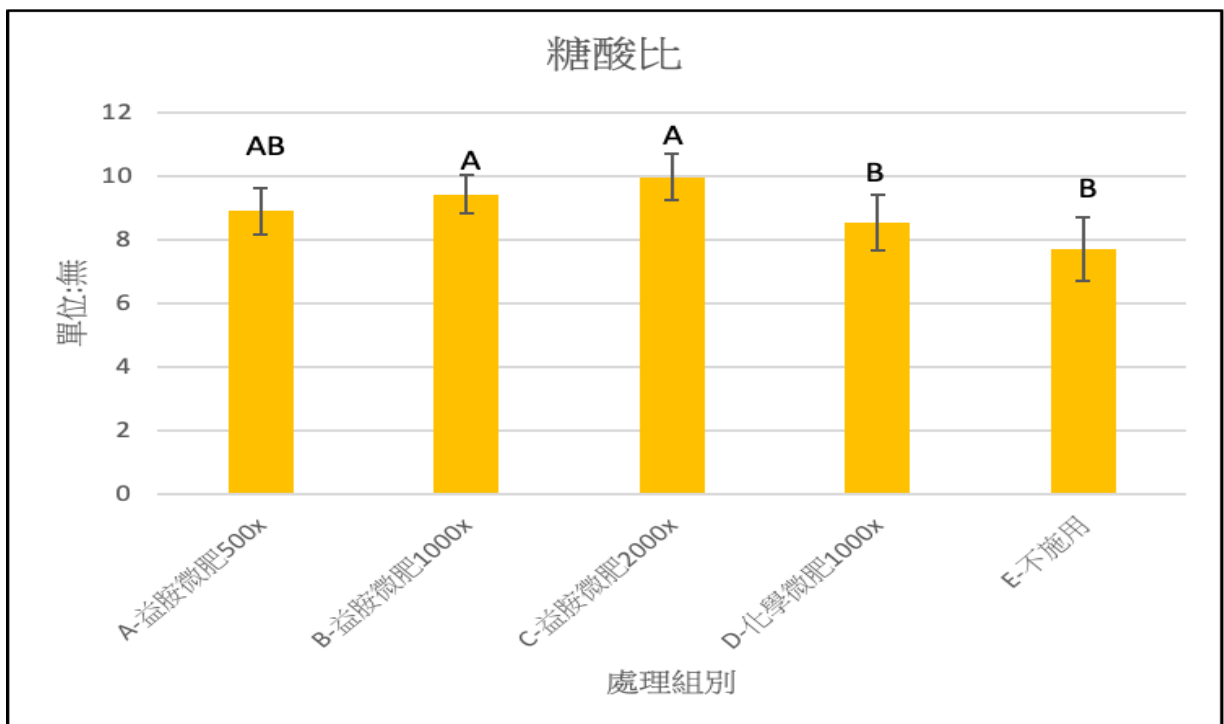
10903版





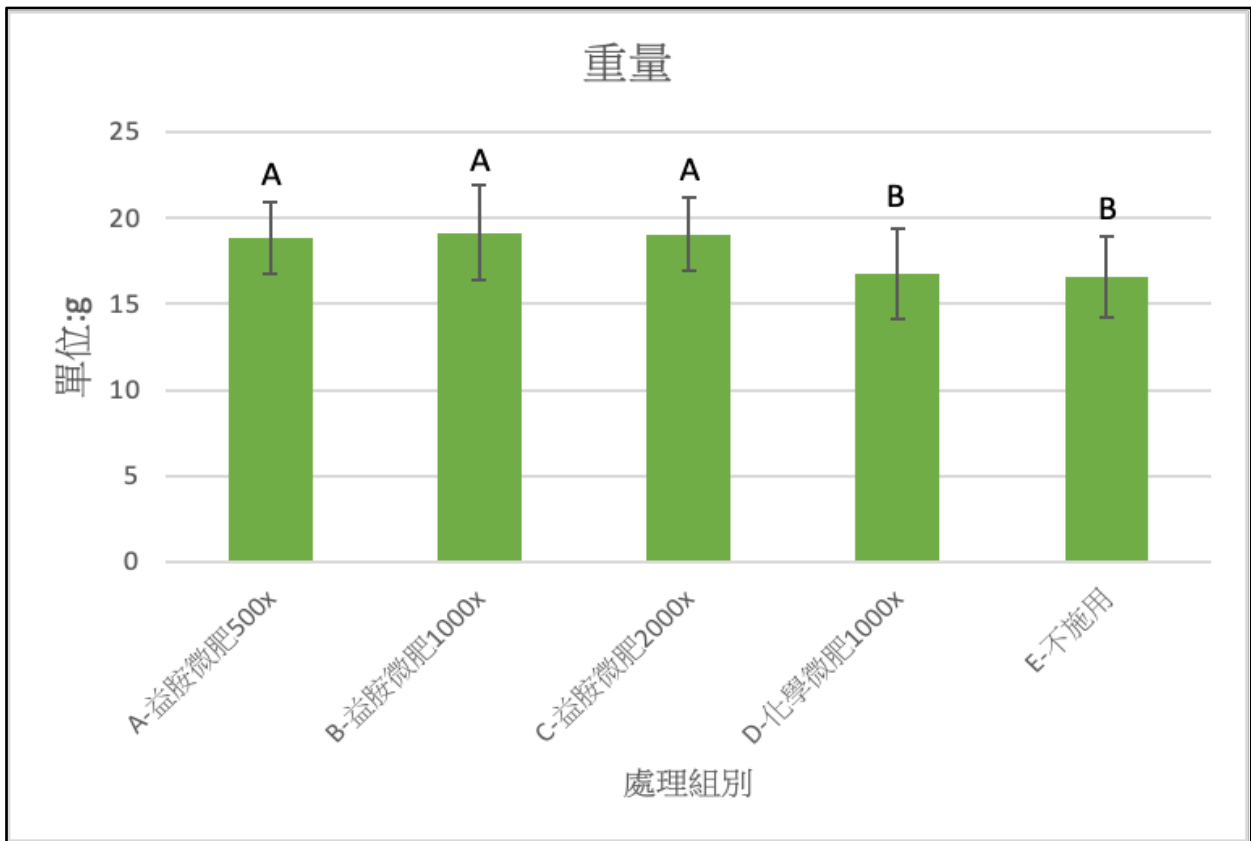


圖一、比較不同處理對草莓（香水品種）外觀性狀（鮮果重量）之結果。

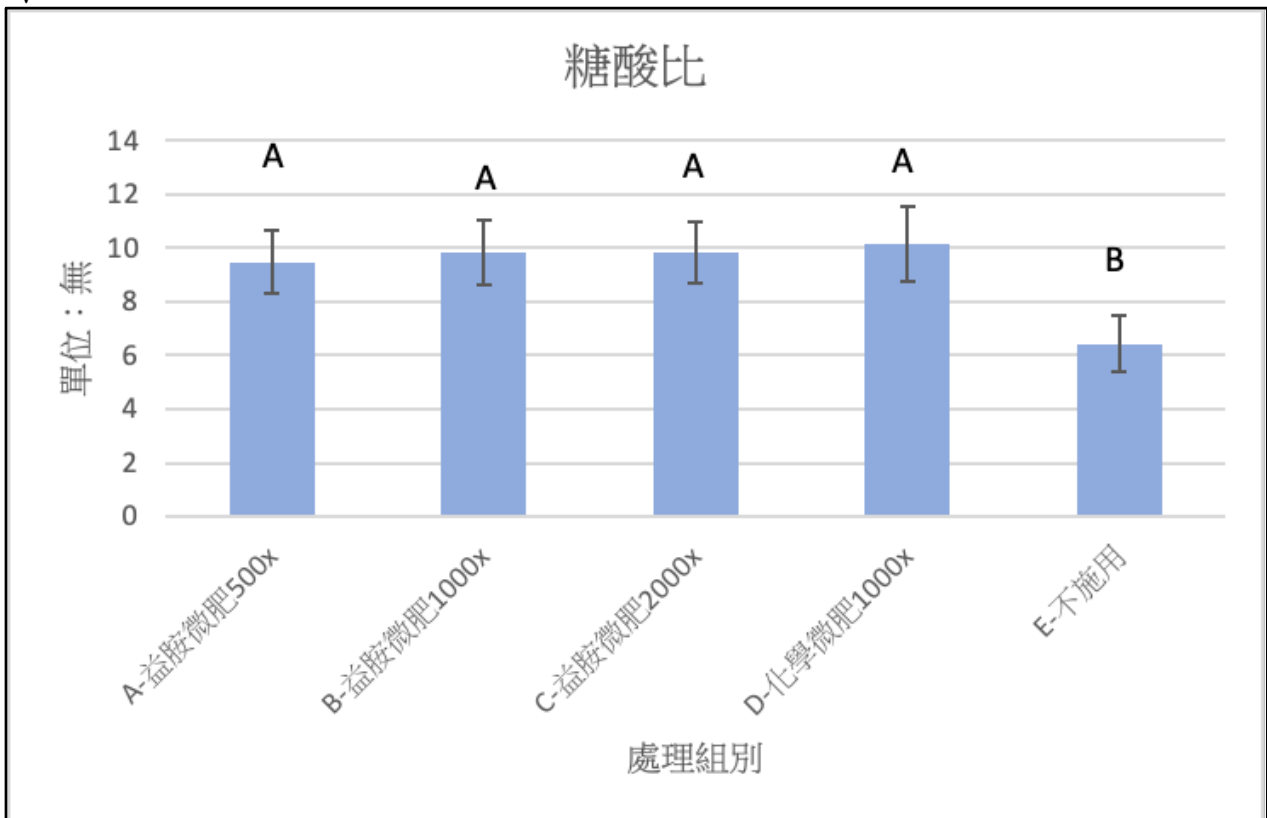


圖二、比較不同處理對草莓（香水品種）品質性狀（糖酸比）之結果。



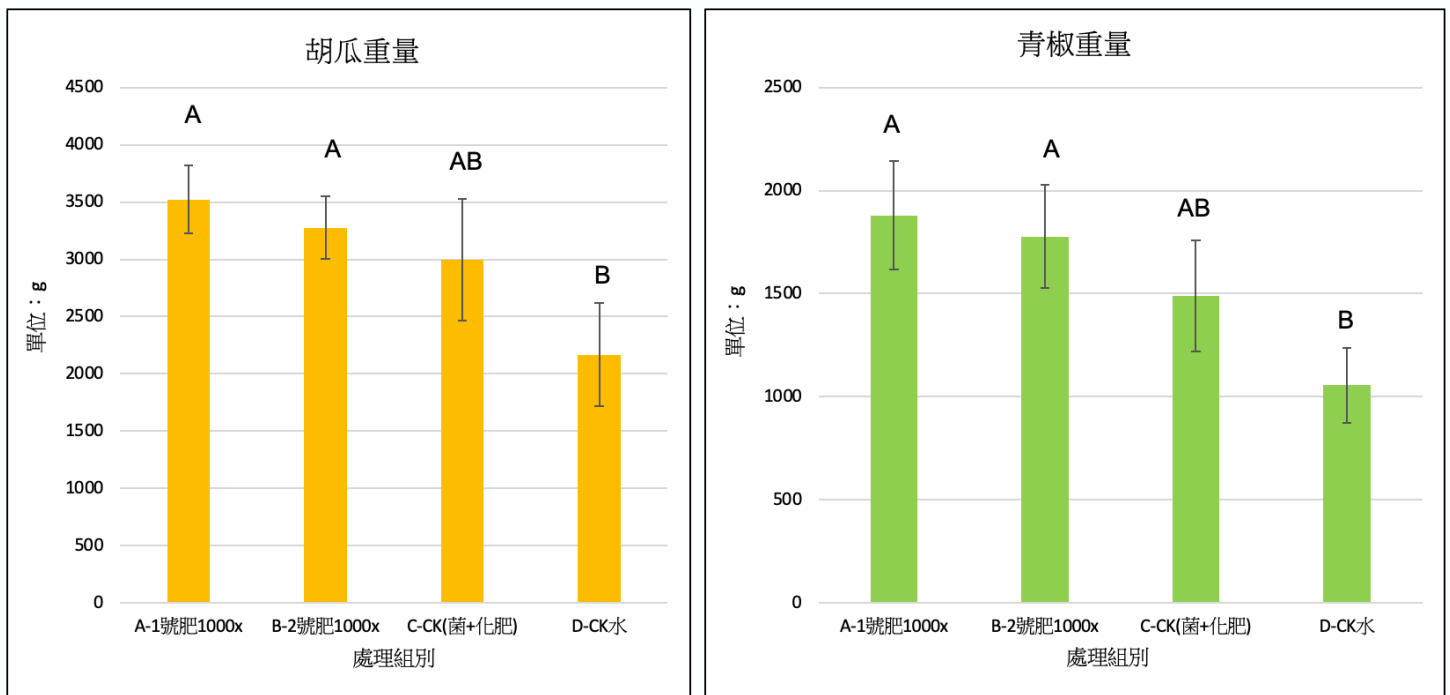


圖三、比較不同處理對草莓（戀香品種）外觀性狀（鮮果重量）之結果。

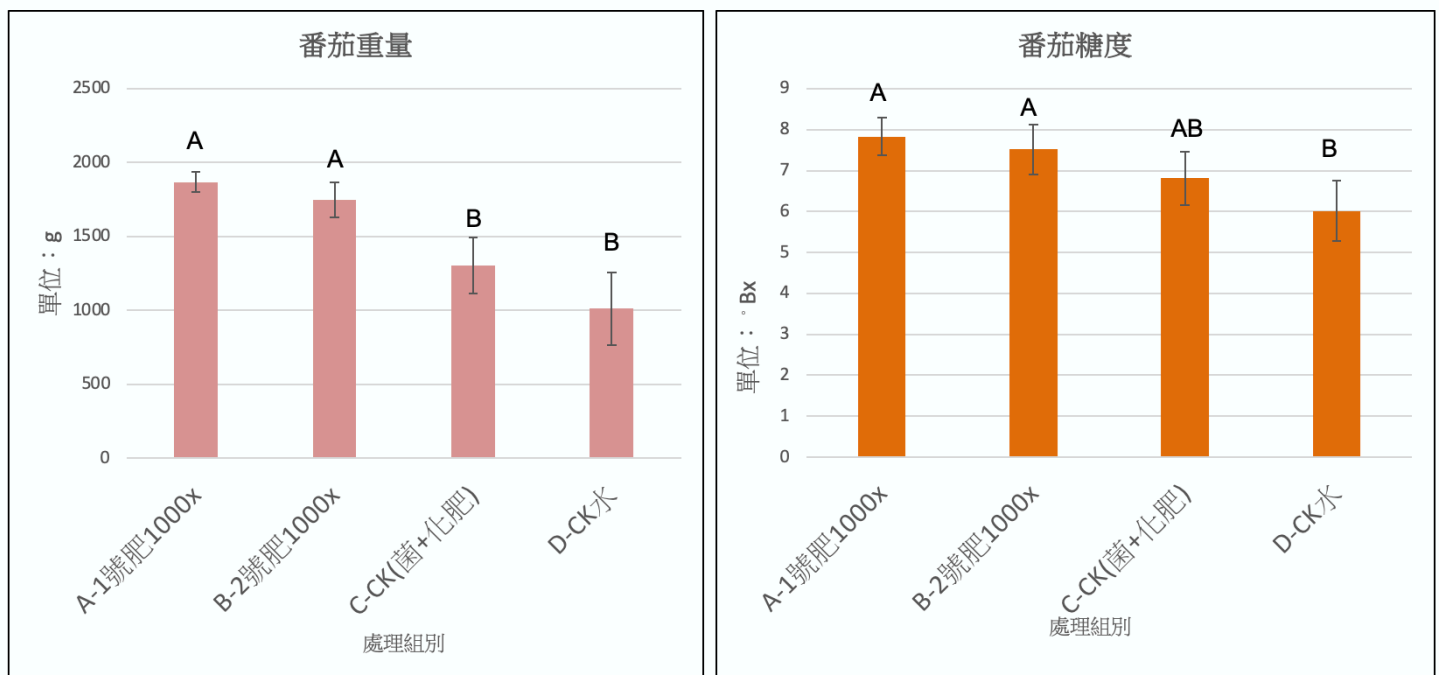


圖四、比較不同處理對草莓（戀香品種）品質性狀（糖酸比）之結果。





圖五、比較不同處理對胡瓜、青椒產量之肥效試驗結果。



圖六、比較不同處理對番茄產量及糖度之肥效試驗結果。

