蔬菜育苗穴盤消毒技術應用之研究1

張為斌、謝明憲、彭瑞菊、郭明池、黄容萱2

摘 要

張為斌、郭明池、彭瑞菊、謝明憲、黃容萱。**2024**。蔬菜育苗穴盤消毒技術應用之研究。臺南區農業改良場研究彙報 83:27-39。

隨蔬菜育苗穴盤普遍使用,衍生出的廢棄物問題逐漸受到重視,育苗穴盤回收再利用既可降低生產成本也可減少廢棄物產生,然而在穴盤回收利用時,容易有微生物殘留風險,無論是在維護環境永續或預防植物病害的角度,穴盤消毒技術皆不可或缺,為顧及操作便利性,本研究評估以 500 ppm 次氯酸鈉稀釋溶液處理回收穴盤,確認該濃度條件浸泡 5 分鐘即可達到細菌 97.5% 及真菌 96.5% 殺菌率的消毒效果,符合實際推廣應用的簡便需求;另因應非化學性消毒需求,以不同溫度熱水浸泡穴盤 10 分鐘後自然乾燥,再進行微生物殘留檢測,確認於 60℃以上熱水處理 10 分鐘可達到細菌 89.7% 及真菌 85% 殺菌率之消毒效果。大量消毒試驗顯示,100 公升 500 ppm 漂白水稀釋液可有效消毒 320 個穴盤,腐黴菌接種試驗亦顯示穴盤消毒可顯著降低病害發生率。本研究證實使用次氯酸鈉或熱水之消毒操作後可有效降低回收穴盤微生物殘留量,可實際推廣應用於育苗產業。

現有技術:目前穴盤回收再利用之常見前處理法為簡略清除介質殘體後,以堆置乾燥

或露天曝曬存儲使用過的穴盤,但不具消毒效果。另雖有推薦浸泡藥劑之

消毒方法,但因使用濃度過高或處理時間過長不利實務操作。

創新內容:分析穴盤不同存儲情形下之微生物殘留情形,擬訂可行之次氯酸鈉或熱水

消毒條件,提供農民回收穴盤之微生物風險管理技術。

對產業影響:提供方便可行之回收穴盤消毒方法,降低回收品之微生物殘留風險,增

加穴盤可回收利用次數,降低穴盤廢棄物產生數量。

閻鍵字:次氯酸鈉、熱水、微生物殘留

接受日期: 2023年12月22日

^{1.} 農業部臺南區農業改良場研究報告第 568 號。

^{2.} 農業部臺南區農業改良場助理研究員、研究員、副研究員兼義竹分場分場長、助理研究員 及助理。712009 臺南市新化區牧場 70 號。

前 言

穴盤育苗具有規格化、整齊度高、單位面積株數多、育苗日數短、易自動化操作及便利運輸等優點,隨著蔬菜育苗工作趨向自動化、分工化,穴盤使用需求量亦隨之成長,然而因屬於 PE 塑膠材質,如何減少廢棄處理的問題已日益嚴重,也迫切有待解決 ⁽⁸⁾。穴盤回收再利用為減少穴盤廢棄物的方法之一,在未變形破損前,發揮穴盤最大使用效益,然而回收穴盤上可能有微生物殘留,如未消毒或消毒欠佳,對於利用有限空間進行密集式生產之穴盤苗,極可能因再利用穴盤之病菌殘留,引發病害感染造成嚴重的損失 ⁽⁶⁾。

依據前人研究,回收穴盤之微生物量,除與穴盤清潔及保持乾燥程度有關,也受存放環境乾濕程度影響,維持乾燥有助於減少微生物孳生數量,但再次受潮或污染,微生物仍會再增殖⁽⁹⁾。已知許多苗期病原菌可殘存於回收穴盤,係起因於再利用穴盤附著已受病原菌污染之前期育苗介質及植物殘體。故育苗穴盤的回收流程,務必注重去除附著於穴盤上的舊介質及植物殘體⁽¹¹⁾;另回收穴盤儲存環境保持通風乾燥,也可有效避免微生物孳生,然而再利用前若未經消毒處理,僅單純藉由堆置乾燥或曝曬方式,對於降低微生物殘留數量效果有限,容易導致穴盤再利用後於苗期病原菌危害風險增高。

次氯酸鈉(氯系漂白水)廣泛應用於環境或各種器械清潔消毒用途,以往研究指出,再利用育苗盤以100 ppm (0.01%)及 500 ppm (0.05%)次氯酸鈉水溶液浸泡 24 小時後晾乾,可提高豌豆芽菜產量並降低根腐病罹病率 ^(2.4),另也有推薦以 6% (60,000 ppm)、3% (30,000 ppm)及 1.5% (15,000 ppm)次氯酸鈉水溶液浸泡 2 分鐘,並自然乾燥 24 小時,可有效消毒且不影響甘藍種子發芽率 ⁽⁹⁾。此外,高溫處理亦為有效的消毒措施,降溫後無藥劑殘留與環境污染疑慮。根據前人研究,以蒸汽消毒進行土壤植物病原菌防除試驗中,蒸氣釋出 20 分鐘後,可水平及垂直地滲透到 20.3 公分處,溫度在土壤中分布均勻,溫度條件為 60 ~ 80℃時,30 分鐘可殺死大部分的植物病原 ⁽¹⁰⁾;在園產品的溫湯處理中則是浸泡 50 ~ 60℃的熱水,處理時間少於 10 分鐘,用於防治潛藏於果實表面的病原菌,降低病原菌的數量或活力 ⁽⁷⁾。為提供穴盤再利用之簡便消毒法,以利落實產業應用,本試驗首先調查回收穴盤之微生物量,分析回收穴盤存儲的微生物污染風險,再評估應用低濃度次氯酸鈉溶液浸泡不同時間對於降低微生物量之效果,也測試應用不同溫度熱水浸泡對回收穴盤的處理成效,期望提供一套回收穴盤再利用前之可行處理技術,推廣產業應用,以利有效減少農業廢棄物處理數量。

材料方法

一、回收穴盤於不同再利用次數及儲期之微生物量調查

- (一)供試材料:為評估戶外日曬與堆置對於再利用穴盤之微生物殘留的影響,於雲林縣 萵苣生產專區選用4種不同來源的128孔育苗穴盤(長60 cm×寬30 cm;孔徑3.2 cm×孔深3.3 cm;聚苯乙烯[Polystyrene, PS]材質),分別為「新穴盤」、「使用 一次穴盤」、「使用二次穴盤」及「使用二次於戶外堆置一個月之穴盤」。
- (二)試驗設計及處理方法:前述4種穴盤各隨機取樣40盤置於簡易防雨設施中,經置放0、7、14及21日,再於該40個堆疊穴盤之前中後段不同位置,逢機抽樣1個

穴盤作為試驗重複,每處理共取 3 個穴盤,每個穴盤以 250 毫升無菌水淋洗 6 區位置不相鄰的穴格,每區 9 格共 54 格,收集淋洗液 ⁽⁹⁾。

(三)調查項目:試驗共使用2種不同培養基:適用於細菌之營養瓊脂培養基(Nutrient agar, NA) (Difco, USA) 及適用於真菌之馬鈴薯葡萄糖培養基 (Potato dextrose agar, PDA) (Difco, USA),滅菌後將20~25 mL 倒入9公分滅菌培養皿中凝固製作平板培養基,供不同類型微生物之培養檢測。參考「食品微生物之檢驗方法-黴菌及酵母菌數之檢驗」(中華民國92年5月27日)取前項採樣收集之淋洗液分別混合均匀後,各處理的3個重複穴盤樣本分別取樣1 mL 置於滅菌1.5 mL 微量離心管中進行稀釋平板法,取0.1 mL 淋洗液進行2次10倍序列稀釋。分別以0.1 mL之1倍淋洗液、10倍與100倍淋洗液稀釋液,每種稀釋濃度塗布於前述不同種類之平板培養基上各1盤,於25℃無光照培養箱培養2日。調查3種濃度塗布之培養皿菌落數,取菌落數介於10~150個的培養皿計算結果(若不同濃度培養皿菌落數落於該區間,取較高濃度培養皿之計算結果),微生物量以每毫升內 colony forming unit (cfu)表示。

二、回收再利用 2 次穴盤以 500 ppm 次氯酸鈉於不同浸泡時間之微生物量調查

- (一)供試材料:於雲林縣萵苣生產專區選用殘留微生物較高的之已回收再利用 2 次穴 盤。
- (二)試驗設計及處理方法:每處理於相同日期回收堆疊穴盤隨機抽樣 3 個穴盤作為試驗重複,於 100 公升方形塑膠桶(長 70 cm×寬 48 cm×高 41 cm;高密度聚乙烯[High-density polyethylene, HDPE] 材質)配製 500 ppm 次氯酸鈉稀釋溶液 20 公升,穴盤正反交疊,水平浸泡於次氯酸鈉稀釋溶液中 5 分鐘、30 分鐘、1 小時、12 小時,並以浸泡清水 5 分鐘作為對照組,浸泡後於陰涼處自然乾燥,以前述方法收集穴盤淋洗液。
- (三)調查項目:利用 NA 及 PDA, 依前述稀釋平板法測定微生物量,並計算殺菌率(%) =(1-處理組微生物量/對照組微生物量)×100%。

三、回收再利用2次穴盤以不同溫度熱水浸泡之微生物量調查

- (一)供試材料:於雲林縣萵苣生產專區選用殘留微生物較高的之已回收再利用2次穴盤。
- (二)試驗設計及處理方法:於100公升方形塑膠桶(長70 cm×寬48 cm×高41 cm; HDPE 材質)注入30公升自來水,置入水浴槽溫度控制器(裕德科技有限公司 BH-130;運轉電流13A)進行水溫控制,以30℃、40℃、50℃及60℃不同溫度自來水浸泡穴盤10分鐘,並與無處理之穴盤對照組進行比較⁽⁷⁾,各處理處理後以前述方法收集穴盤淋洗液。
- (三)調查項目:依前述稀釋平板法測定微生物量並計算殺菌率。

四、回收穴盤以不同濃度次氯酸鈉稀釋溶液浸泡之微生物量調查

- (一)供試材料:選用雲林縣萵苣生產專區之回收再利用穴盤。
- (二)試驗設計及處理方法:每處理於相同日期回收堆疊穴盤隨機抽樣3個穴盤作為試驗重複,分別以500 ppm、100 ppm、50 ppm及10 ppm 次氯酸鈉稀釋溶液浸泡5分鐘,並以浸泡清水5分鐘作為對照組,浸泡後於陰涼處自然乾燥,以前述方法收集穴盤淋洗液。
- (三)調查項目:依前述稀釋平板法測定微生物量並計算殺菌率。

五、大量消毒作業過程中次氯酸鈉稀釋溶液濃度變化及穴盤微生物量調查

- (一)供試材料:選用雲林縣萵苣生產專區之回收再利用穴盤。
- (二)大量消毒作業方法:於100公升方形塑膠桶(長70 cm×寬48 cm×高41 cm; HDPE 材質)配製500 ppm 次氯酸鈉稀釋溶液80公升,每批次20 片穴盤,正反交疊,盤面垂直浸泡於次氯酸鈉稀釋溶液中5分鐘後取出瀝乾,本次試驗持續進行16 批次。
- (三) 次氯酸納稀釋溶液自由有效餘氯濃度 (Free Residual Chlorine) 檢測: 參考前人研究 (3) 及環保署公告方法「水中餘氯檢測方法—分光光度計法」(中華民國 95 年 10 月 15 日) 進行,以濃度 0.0891、0.267、0.446 及 0.624 mg/L 高錳酸鉀標準溶液(相對於氯離子濃度 0.1、0.3、0.5 及 0.7 ppm) 製作檢量線,標準溶液取 100 mL,依次加入 5 mL 磷酸鹽緩衝溶液、5 mL N,N-Diethylp-phenylenediamine (DPD) 呈色劑(帝一化工原料股份有限公司,臺北市)使均勻混合並呈色,以分光光度計在波長 515 nm 測其吸光度;水樣測定以二次蒸餾水稀釋至 1 ppm 以下,取稀釋後水樣 10 mL,依次加入 0.5 mL 磷酸鹽緩衝溶液、0.5 mL DPD 呈色劑,以分光光度計在波長 515 nm 測其吸光度,再依檢量線及稀釋倍數回推自由有效餘氯濃度。
- (四)試驗設計及處理方法:分別於穴盤消毒作業前,消毒 1、4、7、10、13 及 16 批次 後取水樣進行自由有效餘氯濃度檢測。分別於第 1、4、7、10、13 及 16 批次穴盤 中各抽樣 3 個穴盤,於陰涼處自然乾燥,以前述方法收集穴盤淋洗液,並以前段試 驗相同來源穴盤浸泡清水 5 分鐘結果作為對照組。
- (五)調查項目:依前述稀釋平板法測定微生物量並計算殺菌率。

六、帶腐黴菌育苗穴盤經次氯酸鈉稀釋液消毒後種植甘藍發病調查

- (一)供試材料:採用人工接種腐黴菌後發生苗立枯病之回收育苗穴盤、處理腐黴菌之穴盤及新穴盤;腐黴菌菌株為本場保存之 Pythium aphanidermatum pu-197;甘藍品種採用初秋(瀧井種苗公司,日本)。
- (二)試驗設計及處理方法:試驗利用接種腐黴菌模擬甘藍苗立枯病發生後回收穴盤情形,分別以實際種植並人工接種發病之回收穴盤及其消毒穴盤、新穴盤浸泡厚膜孢子液處理及其消毒穴盤與新穴盤,共5種處理,各3重複,完全隨機排列,於義竹分場育苗溫室以滅菌介質土進行甘藍育苗,並於育苗後12日進行調查。
 - 1. 腐黴菌接種源製備:利用 5% V8 agar (5% VA;將 5% V8 vegetable juice 與 0.02% CaCO₃ 混合後,加入 2% Agar 後滅菌製備培養基),於 25℃定溫箱內,培養供試菌株,3 ~ 5 天後將菌落先端部份切成 $5 \times 5 \times 3$ mm³ 的菌絲塊,置於 9 cm 培養皿內,每皿 4 ~ 6 塊,再倒入 5% V8 蔬菜汁 (5% V8 vegetable juice 與 0.02% CaCO₃ 混合後滅菌備用)約 20 mL,於 25℃定溫箱內培養約 5 ~ 7 天後將厚膜孢子連同菌絲刮下,利用果汁機 (MJ-M176P, Panasonic) 打碎 (3 檔,1 min),使厚膜孢子與菌絲分離,經 2 ~ 3 層無菌紗布過濾,可得純化孢子懸浮液,以無菌水調整濃度為 10^4 spores/mL 作為接種源 $^{(1)}$ 。
 - 2. 發生苗立枯病之回收育苗穴盤:以 128 孔育苗穴盤種植甘藍 2 週後,進行腐黴菌接種,以洗滌瓶滴厚膜孢子液於各穴格中,每穴盤處理約 50 mL,再行種植 2 週後,移除植株及介質土,穴盤回收備用。
 - 3. 新穴盤處理腐黴菌:將 500 mL 接種源厚膜孢子液倒入 100 公升方形塑膠桶桶

後,將新穴盤置入浸漬處理約30秒後,取出晾乾備用。

- 4. 穴盤消毒:以 20 公升 500 ppm 次氯酸鈉稀釋溶液於 100 公升方形塑膠桶中進行,穴盤盤面平舗浸泡於次氯酸鈉稀釋溶液中 5 分鐘後取出瀝乾。
- (三)調查項目:利用微生物採樣塗抹棒 (Q-Swab, Hygiena) 隨機取樣穴盤上之9個穴格,並將其取樣液透過 Eddy JET 2 自動塗盤機 (IUL micro, Spain) 於 NA、PDA 及 VA 培養基進行螺旋塗盤,於 25℃無光照培養箱培養 2 日後,計算微生物菌落數量及 cfu/mL,並計算殺菌率 (%) = (1 處理組微生物量 / 消毒組微生物量)×100%。

結果與討論

一、回收穴盤於不同再利用次數及儲期之微生物量調查

針對不同穴盤來源進行微生物量調查(表1),在NA(細菌偏好)調查中介於17~16,333 cfu/mL,新穴盤最低,使用二次且於戶外堆置一個月之穴盤最高,二者之間具顯著差異;PDA(真菌偏好)調查中,介於7~7,600 cfu/mL,以使用二次且於戶外堆置一個月之穴盤最高,與其他來源穴盤具顯著差異。從各來源穴盤之微生物量調查可見,新穴盤微生物量明顯低於其他回收穴盤,而使用二次且於戶外堆置一個月之穴盤之微生物量最高,顯示於戶外堆置穴盤,在微生物殘存的控制上並無益處。

表 1. 各來源穴盤之微生物量

Table 1. Number of microorganisms from different sources of plug seedling trays

穴盤來源 ^y		量 (cfu/mL) ^z rganisms (cfu/mL) ^z on
Source of plug seedling trays ^y —	Nutrient agar	Potato dextrose agar
A	17c ^z	7b
В	6,933bc	2,167b
C	12,267ab	2,200b
D	16,333a	7,600a

 ^{y}A :新穴盤;B:使用一次穴盤;C:使用二次穴盤;D:使用二次且於戶外堆置一個月之穴盤。

A: new plug seedling tray; B: used once plug seedling tray; C: used twice plug seedling tray; D: plug seedling trays that were used twice and then stored outdoors for a month.

" 微生物量以菌落形成單位 (cfu) 計數。同欄平均值後之字母不同者表示於 5% 水準下經 Fisher's LSD 檢定達顯著差異。

cfu: colony forming unit. Means within each column followed by different letters are significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD.

在不同存放日數調查結果中(表 2),各處理重複間差異大,在不同存放日數間的 微生物量變化互有消長,多不具有顯著差異,各穴盤來源與各培養基調查數據間未有明顯的趨勢,相關結果與前人研究相似 $^{(9)}$,存放過程中微生物量各有消長,細菌類大約於 $10^4 \sim 10^5$ cfu/mL 間波動、而真菌類則約於 $10^3 \sim 10^4$ cfu/mL 間波動,本次實驗調查之 微生物量略低於前述報告,但藉由不同種類培養基調查在不同存放日數後的不同穴盤來

源微生物量,仍然顯示微生物並不隨放置時間延長而減少,相關結果說明穴盤回收使用 前的消毒措施才是微生物控管的重要預防措施。

表 2. 各來源穴盤存放不同日數後之微生物量

Table 2. Number of microorganisms from different sources of plug seedling trays after different days of storage

培養基 Medium	存放日數	Nun	微生物量 aber of microorg	'	L) ^z on
Medium	Storage days -	A^{y}	В	С	D
	0	17a ^z	6,933a	12,267a	16,333a
Note: and a see	7	103a	13,400a	7,767ab	15,000a
Nutrient agar	14	87a	6,000a	5,800b	26,533a
	21	1,210a	6,567a	2,500b	10,133a
	0	7b	2,167b	2,200b	7,600ab
D-4-4- 14	7	93a	3,167ab	900b	3,867c
Potato dextrose agar	14	20b	6,600a	3,767a	9,367a
	21	43ab	2,900b	1,567b	4,567bc

 $^{^{}y}$ A:新穴盤;B:使用一次穴盤;C:使用二次穴盤;D:使用二次且於戶外堆置一個月之穴盤。

cfu: colony forming unit. Means within each column followed by different letters are significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD.

二、回收育苗穴盤於 500 ppm 次氯酸鈉不同處理時間之消毒效果

以 NA 培養基檢測結果中,無處理對照組(回收再利用 2 次穴盤)平均含菌量為每毫升 67,067 個菌落,4 種處理時間處理組殺菌率可達到 97.5 ~ 99.5%,皆與對照組存有顯著差異,但處理間無顯著差異;以 PDA 培養基檢測亦有相同趨勢,無處理對照組平均含菌量為每毫升 16,433 個菌落,各處理組殺菌率可達到 96.5 ~ 99.2%,4 種處理時間皆與對照組呈顯著差異,但處理間無顯著差異(表3)。此結果顯示,以 500 ppm 次氯酸鈉稀釋液浸泡回收穴盤可有效降低穴盤殘留微生物量,且只需浸泡 5 分鐘即可得良好消毒效果,時間延長對消毒效果提升之效果有限,以低濃度次氯酸鈉水溶液進行消毒,短時間浸泡即可達到顯著效果,且數量低於前人研究 ⁽⁹⁾ 推薦方法 6% 次氯酸鈉水溶液浸泡 2 分鐘,並自然乾燥 24 小時後之細菌菌落數 4,650 cfu/mL,可作為消毒措施之推薦。

在前人研究 ⁽⁵⁾ 中以次氯酸鈉浸泡蔬菜對大腸桿菌群進行消毒測試,結果在 200 ppm 濃度下 10 分鐘即有良好消毒效果,拉長時間對效果提升有限,結果與本次試驗結果相符,另指出以次氯酸鈉 50 ppm 以上浸泡蔬菜 10 分鐘以上即對大腸桿菌群有顯著除滅效果,但次氯酸鈉濃度在有機物影響下會大幅下降。於 300 ppm 次氯酸鈉溶液中,若投入蔬菜植體(蔥段)浸泡 20 分鐘,次氯酸鈉溶液濃度降至 130 ppm,低於無蔬菜植體對照

A: new plug seedling tray; B: used once plug seedling tray; C: used twice plug seedling tray; D: plug seedling trays that were used twice and stored outdoors for a month.

² 微生物量以菌落形成單位 (cfu) 計數。同欄平均值後之字母不同者表示於 5% 水準下經 Fisher's LSD 檢定達顯著差異。

組的一半⁽⁵⁾。因此在穴盤消毒中,為確保次氯酸鈉有效濃度,仍建議以 500 ppm 作為處理濃度較佳,而大批次作業時若有流失,建議以相同濃度次氯酸鈉稀釋液補充,減緩濃度下降速度。

表 3. 回收育苗穴盤經次氯酸鈉稀釋液 (500 ppm) 處理不同時間後之微生物量

Table 3. Number of microorganisms on the recycled plug seedling trays treated with sodium hypochlorite solution (500 ppm) for different lengths of time

	Nutrien	t agar	Potato dext	rose agar
消毒時間 Disinfection time	微生物量 (cfu/mL) ^z Number of microorganisms (cfu/mL) ^z	殺菌率 (%) Disinfection rate (%)	微生物量 (cfu/mL) Number of microorganisms (cfu/mL)	殺菌率 (%) Disinfection rate (%)
5 min	1,693b ^z	97.5	570b	96.5
30 min	303b	99.5	323b	98.0
1 hr	1,203b	98.2	370b	97.7
12 hr	770b	98.9	123b	99.2
CK	67,067a	_	16,433a	_

² 微生物量以菌落形成單位 (cfu) 計數。同欄平均值後之字母不同者表示於 5% 水準下經 Fisher's LSD 檢定達顯著差異。

cfu: colony forming unit. Means within each column followed by different letters are significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD.

三、回收育苗穴盤於不同溫度熱水之消毒效果

在 NA 培養基檢測結果中(表 4),無處理對照組(回收再利用 2 次穴盤)平均含菌量為每毫升 6,027.8 個菌落,30℃、40℃、50℃及 60℃處理殺菌率分別為 37.7%、29.7%、43.5% 及 89.7%,其中 60℃處理與無處理對照組具顯著差異;PDA 培養基檢測結果,無處理對照組平均含菌量為每毫升 3,455.8 個菌落,30℃、40℃、50℃及 60℃處理殺菌率分別為 58.3%、81.5%、72.2% 及 85%,但各處理組間無顯著差異。前人研究在土壤消毒中,48℃ 10 分鐘即可殺死根瘤線蟲、50℃處理 5 分鐘即可殺死菌核病菌,增加溫度與時間至 60℃處理 30 分鐘可除滅多數有害微生物 (10)。本試驗結果顯示,利用熱水浸泡作為消毒方法時,在 10 分鐘的浸泡時間中,溫度須提升至 60℃以上才具較佳消毒效果,因此建議以 60℃熱水浸泡 10 分鐘作為處理條件,處理過程中應注意水溫的維持,處理完畢應儘速晾乾或即時使用,避免微生物再次孳生。

四、回收穴盤以不同濃度次氯酸鈉稀釋溶液浸泡後之微生物量調查

在 NA 培養基檢測結果中(表 5),無處理對照組平均含菌量為每毫升 4,623 個菌落,500 ppm 濃度處理組殺菌率為 97.4%,100、50 及 10 ppm 濃度處理組殺菌率介於77.5% ~ 84.9%; PDA 培養基檢測結果中,無處理對照組平均含菌量為每毫升 1,353 個菌落,500 ppm 濃度處理組殺菌率為 99.0%,100、50 及 10 ppm 濃度處理組殺菌率介於84.2% ~ 91.6%。各濃度處理組之微生物數與清水處理對照組皆呈顯著差異,然而各濃度處理間無顯著差異,顯示即使利用較低濃度之次氯酸鈉稀釋溶液浸泡回收穴盤,仍可

獲得優於清水浸泡對照組之殺菌成效。

表 4. 回收育苗穴盤經不同溫度自來水處理後之微生物量

Table 4. The number of microorganisms on the recycled plug seedling trays treated with tap water at different temperatures

	Nutrien	t agar	Potato dext	rose agar
温度 Temperature	微生物量 (cfu/mL) ^z Number of microorganisms (cfu/mL) ^z	殺菌率 (%) Disinfection rate (%)	微生物量 (cfu/mL) Number of microorganisms (cfu/mL)	殺菌率 (%) Disinfection rate (%)
30°C	3,758.3ab ^z	37.7	1,440.0a	58.3
40°C	4,239.6ab	29.7	640.0a	81.5
50°C	3,408.4ab	43.5	960.0a	72.2
60°C	620.0b	89.7	520.0a	85
控制組 CK	6,027.8a	_	3,455.8a	_

[&]quot;微生物量以菌落形成單位 (cfu) 計數。同欄平均值後之字母不同者表示於 5% 水準下經 Fisher's LSD 檢定達顯著差異。

cfu: colony forming unit. Means within each column followed by different letters are significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD.

表 5. 回收育苗穴盤經不同濃度次氯酸鈉稀釋溶液浸泡後之微生物量

Table 5. The number of microorganisms on the recycled plug seedling trays treated with different concentrations of sodium hypochlorite solution

	Nutrien	t agar	Potato dext	rose agar
濃度 (ppm) Concentration (ppm)	微生物量 (cfu/mL) ^z Number of microorganisms (cfu/mL) ^z	殺菌率 (%) Disinfection rate (%)	微生物量 (cfu/mL) Number of microorganisms (cfu/mL)	殺菌率 (%) Disinfection rate (%)
500	120b ^z	97.4	13b	99.0
100	700b	84.9	113b	91.6
50	1,040b	77.5	213b	84.2
10	713b	84.6	127b	90.6
對照組 CK	4,623a	_	1,353a	_

² 微生物量以菌落形成單位 (cfu) 計數。同欄平均值後之字母不同者表示於 5% 水準下經 Fisher's LSD 檢定達顯著差異。

cfu: colony forming unit. Means within each column followed by different letters are significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD.

五、大量消毒作業過程中次氯酸鈉稀釋溶液濃度變化及穴盤微生物量調查

大量消毒作業過程中之自由有效餘氯濃度檢測顯示(圖1),在16批次的浸泡過程中,次氯酸鈉稀釋溶液之自由有效餘氯濃度由測量值446.7 ppm下降至158.6 ppm,平均消毒5批次會下降90 ppm左右,然而由圖1可見消毒過程中自由有效餘氯濃度消退

並不均勻,可能與各批消毒穴盤本身清潔度不一有關;透過 NA 及 PDA 培養基的微生物檢測結果中顯示,第1批至第16批次的殺菌率介於93~100%及94~100%之間,符合前述不同濃度次氯酸鈉稀釋溶液處理之結果。

本試驗顯示,穴盤消毒過程中濃度的消退並未如前人研究 (5) 中以次氯酸鈉浸泡蔬菜之測試,於 20 分鐘即由 300 ppm 下降至 130 ppm。本次消毒過程耗時約 2 個小時,消毒 16 批次穴盤,因應試驗需要,消毒過程中並未補充新的次氯酸鈉稀釋溶液,實務應用中仍建議以 500 ppm 作為處理濃度,消毒時清除穴盤內附著介質及以相同濃度稀釋液補充殺菌過程中流失之稀釋液,減緩濃度下降速度,處理前可利用餘氯試紙確定稀釋液濃度維持於 200 ppm 以上,且每處理 10 批檢測一次,確保濃度及其殺菌效果。依據本次測試估算,100 公升漂白水稀釋液(原始 80 公升及消毒過程流失補充之 20 公升),可消毒 320 個穴盤 (16 批× 20 個,濃度維持 100 ppm 以上),平均每個穴盤消毒成本約 0.15元。

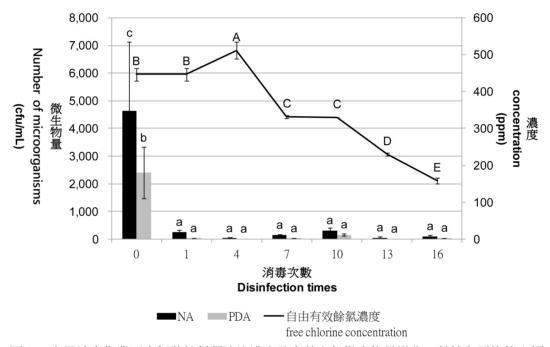


圖 1. 大量消毒作業下次氯酸鈉稀釋溶液濃度及育苗穴盤微生物量變化。數據為平均值 ± 標準差 (n = 3)。不同小寫或大寫字母的數據表示於 5% 水準下經 Fisher's LSD 檢定達顯著差異。

Fig. 1. Changes of microbial biomass in the plug seedling trays and the concentration of sodium hypochlorite solution large-scale disinfection operation. Data are mean \pm standard deviation (n = 3). Data with different lowercase/uppercase letters are different by Fisher's LSD tet at the 5% level.

六、帶腐黴菌育苗穴盤經次氯酸鈉稀釋液消毒後種植甘藍發病調查

利用實際種植甘藍苗透過人工接種發生苗立枯病之回收穴盤(發病後回收的穴盤) 與新穴盤浸漬處理腐黴菌厚膜孢子液之穴盤(接種孢子的穴盤),模擬遭苗期病害病原

帶腐黴菌育苗穴盤經次氯酸鈉稀釋液消毒後之微生物量及甘藍苗罹病率 表 6.

Table 6. Microbial biomass and disease incidence of cabbage seedlings on the trays that infected with Pythium aphanidermatum and then, disinfected

E. H		養 Recycled pl	§生苗立枯症 ug seedling 1 seedlin	發生苗立枯病後回收的穴盤 Recycled plug seedling tray after the occurrence of seedling blight	監 ccurrence of	Plug	接種腐黴這 ; seedling tra aphanidern	接種腐黴菌孢子的穴盤 Plug seedling tray inoculated with P. aphanidermatum spores	ith <i>P.</i>	新穴盤
 % d d d d d d d d d d		消毒前 消毒後 before after disinfection disinfection	消毒後 after disinfection	顯著性檢定 ^y Significance test ^y	殺菌率 Disinfection rate (%))消毒前 before disinfection	消毒前 消毒後 before after disinfection disinfection	顯著性檢定 ^y Significance test ^y	殺菌率 Disinfection rate (%)	new plug seedling tray
微生物量	Nutrient agar 25,657.1 ^z	25,657.1 ^z	560.0	* >	8.76	78,307.3	78,307.3 26,312.2	ns	66.4	1,093.3
$(cfu/mL)^2$ Number of	Potato dextrose agar	13,679.9	266.7	ns	98.1	55,339.4	55,339.4 4,845.0	ns	91.2	586.7
$(cfu/mL)^z$	V8 agar	21,930.0	373.3	su	6.66	203,645.8 37,291.1	37,291.1	*	8.66	1,280.0
甘藍苗罹病率 (%) Disease incidence c seedlings (%)	寸藍苗羅病率 (%) Disease incidence of cabbage reedlings (%)	3.7	0:0	*	l	7.8	0.0	*	l	0:0

ν 消毒前後微生物量顯著性檢定:ns 為不顯著;* 指在 5% 水準下 T 檢定達顯著差異。

Significance test between the numbers of microorganisms before and after disinfection. ns, non-significant; *, significant at 5% levels by T-test. * 微生物量以菌落形成單位 (cfu) 計數。

cfu: colony forming unit.

菌污染之穴盤,依照本文建議之消毒措施(500 ppm 次氯酸鈉稀釋溶液浸泡5分鐘)處理,結果可見微生物殘留量在3種培養基檢測中皆以新穴盤最低,浸漬厚膜孢子液處理的穴盤大於發生病害之回收穴盤。消毒後的殺菌率,除接種孢子的穴盤中以NA檢測結果殺菌率66.4%較差外,其餘檢測結果殺菌率介於91.2%~99.9%,但由於各處理樣本間取樣誤差較大,僅發病後回收穴盤之NA培養基檢測結果與接種孢子穴盤之VA培養基檢測結果中,消毒前後微生物量具顯著差異。另由甘藍苗罹病率來看,發病後回收的穴盤及接種孢子的穴盤之苗罹病率分別為3.6%及7.8%,新穴盤或經消毒穴盤皆無發病,發病後回收的穴盤與接種孢子的穴盤消毒前後皆具顯著差異,顯示透過消毒措施降低穴盤微生物量,可確實有效降低回收穴盤造成的病害發生風險。

結 論

本研究調查新舊穴盤的微生物殘留數量,並追蹤調查使用過穴盤於不同存放時間後的微生物量變化,調查結果顯示回收穴盤微生物殘留數量明顯高於新穴盤,不同來源的穴盤微生物殘留數量互有高低,甚至於相同來源穴盤中,微生物殘留量仍具相當大的差異。存放堆置過程中,縱使存放於有陽光曝曬且無雨水淋洗的環境中,微生物量並無顯著下降趨勢,顯示回收穴盤的微生物風險控管無法依靠育苗場最常使用之曝曬堆置而降低,因此進一步依據試驗結果提出以500 ppm 次氯酸鈉稀釋溶液,浸泡5分鐘之處理方法,對於回收穴盤殘留細菌與真菌皆具有95%以上殺菌率之消毒效果,但需注意使用頻度對有效濃度降低影響。因應非化學性消毒需求,以60℃以上熱水處理浸泡穴盤10分鐘進行消毒,對細菌亦具有89.7%殺菌率之消毒效果,惟此法對真菌殺菌率85%低於前述方法,使用時應特別注意。前述2項簡易有效的消毒方法可作為回收穴盤消毒操作之參考依據,回收穴盤適度消毒再利用,可有效減少農業廢棄物,落實循環農業精神並降低耗材成本。

誌 謝

本研究感謝保證責任雲林縣麥寮果菜生產合作社提供穴盤樣本供檢測及試驗;雲林縣元 長鄉吳平育苗場提供穴盤樣本及相關技術應用回饋。

引用文獻

- 1. 安寶貞、陳麗鈴、蘇俊峯、楊正偉、蔡惠玲、蔡幸君、蔡志濃、謝廷芳。2014。腐黴菌 Pythium splendens 引起之馬拉巴栗苗木病害。植病會刊 23:285-292。
- 2. 林益昇、黃晉興、龔玉惠。2002。腐霉菌引起設施豌豆苗根腐病之防治。植物病理學會 刊 11(4): 221-228。
- 3. 許國樑。2011。檢測方法儀器及試劑影響自由有效餘氯準確度之研究。自來水會刊 30(3): 88-93。
- 4. 黃晉興。1993。豌豆芽菜根腐病病因學、生態學與防治研究。 碩士論文:中興大學植物

病理學研究所。臺中市。

- 5. 張向慧、范振良。2007。影響次氯酸鈉溶液蔬菜消毒效果的主要因素。開封大學學報 21(3): 84-86。
- 6. 陳俊位、戴振洋。2000。十字花科蔬菜穴盤苗常見之病害種類及防治方法。臺中區農業 專訊 31:21-26。
- 7. 黄偉峻。2013。熱處理在園產品採後處理之應用。臺中區農情月刊 171:3。
- 8. 戴振洋。2000。蔬菜育苗穴盤之探討。臺中區農業專訊 31:17-20。
- 9. 盧子淵、鍾瑞永、鄭安秀、許瑛玲、黃裕益。1999。浸入式穴盤消毒機之研製與穴盤消毒試驗。臺南區農業改良場研究彙報 36:69-76。
- 10. 鄭安秀、李敏郎。1997。蒸氣消毒在植物病害防治上之應用。臺南區農業訊 22:4-7。
- 11. 高原源、王秀、舒象興、趙春江。2017。育苗穴盤自動清洗裝置的設計。農機化研究 1:63-67。

Study on the application of disinfection technology for vegetable plug seedling trays¹

Chang, W. B., M. H. Hsieh, J. C. Peng, M. C. Kuo and R. H. Huang²

Abstract

With the widespread use of vegetable plug seedlings, the used trays has becoming a problem day by day. The recycling and reuse of plug seedling trays can reduce production costs and reduce waste. However, when the trays are reused, there is a risk of pathogen or microorganism on the trays. No matter from the perspective of maintaining environmental sustainability or preventing from plant diseases, tray disinfection technology is indispensable. For the convenience of operation, this study evaluated the use of 500 ppm dilutions of sodium hypochlorite solution to treat recycled plug seedling trays and confirmed that soaking at this concentration for 5 minutes can achieve 97.5% of disinfection rates for bacteria and 96.5% for fungi. The method meets the simple requirements of actual promotion and application, and the needs of non-chemical disinfection, the trays were soaked in hot water at different temperatures for 10 minutes, air-dried, and then tested for the existence of microorganisms. Treatment with hot water above 60°C for 10 minutes can achieve 89.7% of disinfection rates for bacteria and 85% for fungi. The large-scale disinfection tests have shown that 100 liters of 500 ppm diluted sodium hypochlorite solution can effectively disinfect 320 plug seedling trays. Pythium aphanidermatum inoculation tests have also shown that plug disinfectioned of seedling trays can significantly reduce the incidence of disease. This study confirms that the use of sodium hypochlorite or hot water for disinfection can effectively reduce the amount of microorganisms remained on the reused or recovered plug seedling trays. The technology can really to recommended to the farmers and used in the seedling industry.

What is already known on this subject?

After removing of the media, the reused trays are usually stored in dry or open-air environment before they were reused. The recommended disinfection method at the present is not practical due to the high concentration disinfectant or long processing time.

What are the new findings?

Analyze the residual microorganisms on the plug seedling trays with different storage conditions. Formulate feasible conditions for sodium hypochlorite or hot water disinfection treatments. Provide microbiological risk management techniques for farmers to reuse trays.

What is the expected impact on this field?

Provide convenient and feasible methods for the disinfection on treatment of recycled trays. Reduce the risk of microbial contamination in the following use of trays. Increase the time of the trays can be reused and recycled. And reduce the waste amount of used traps.

Key words: Sodium hypochlorite, Hot water, Microorganism remain Accepted for publication: December 22, 2023

- 1. Contribution No. 568 from Tainan District Agricultural Research and Extension Station.
- Assistant Researcher, Researcher, Associate Researcher and Chief of Yichu Branch Station, Assistant Researcher and Assistant, Tainan District Agricultural Research and Extension Station.
 Muchang, Hsinhua, Tainan 712009, Taiwan, R.O.C.