

應用微生物製劑及配方緩解小胡瓜高溫逆境研究

張廖伯勳¹、陳泰元¹、柯佩萱²、張耀聰^{3*}

¹ 農業部高雄區農業改良場作物環境科助理研究員。

² 農業部高雄區農業改良場計畫助理。

³ 農業部高雄區農業改良場作物環境科副研究員。

* ytc@mail.kdais.gov.tw

摘要

本試驗將土壤微生物*Bacillus velezensis* KHH13(以下簡稱KHH13)增量培養製作成微生物製劑，應用於夏季蔬菜青梗白菜育苗及小胡瓜栽培。發現其在高溫環境下可協助青梗白菜幼苗減少高溫危害、增加側根數量。小胡瓜盆栽試驗以KHH13處理組及提升耐熱能力配方(以下簡稱HA)添加KHH13處理組，在高溫逆境之生物量表現比對照組增加15.38-50.85%，且在44°C耐熱處理下，對照組萎凋率達66%，KHH13處理及HA添加KHH13處理組則未有萎凋情形。高溫逆境田間試驗下，KHH13處理組及HA添加KHH13處理皆可增加產量，並提升良果率之趨勢。

關鍵字：微生物製劑、熱逆境、作物耐熱性

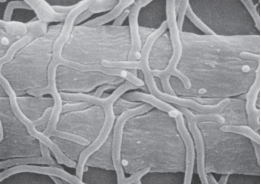
前言

當氣溫隨著全球暖化逐漸上升，熱逆境影響作物幼苗生長及日後產量，成為未來農業將面臨的問題(Fahad *et al.*, 2017)。土壤有益微生物可產生IAA、GA及Cytokinin等植物生長激素，可促進植物根系生長，提高養分吸收；並藉由誘導植物生成ACC脫氨酶及抗氧化酶，提升植物抵抗高溫等不良環境的能力，有效減緩氣候變遷所造成之作物損失(Glick, 2014)。研究指出*Bacillus cereus*菌株萃取物及特定比例腐植酸共同使用，可降低萎凋率、增加生物量、產生植物激素及抗氧化酶，達到減輕番茄高溫逆境的效果(Khan *et al.*, 2020)。故本試驗將土壤中篩選出之*B. velezensis* KHH13作為試驗菌株，並加入本場

研發提升耐熱能力之配方進行試驗，探討微生物製劑在提升作物耐熱性上之應用。

材料與方法

青梗白菜(農友)育苗至第一片本葉生長後植於MS培養基上，以KHH13塗盤為處理組、無塗菌盤為對照組，生長箱日/夜溫設定為38°C/30°C，5日後記錄根部生長表現。盆栽試驗以小胡瓜(飛揚)栽培於6吋盆中，生長至2葉齡後於生長箱中以44°C及28°C分別處理3日，給予1日恢復期後記錄葉綠素讀值(SPAD)、鮮乾重及萎凋率。田間試驗於屏東內埔(高溫逆境)、長治(高溫逆境)及長治(高溫逆境及土壤鹽分逆境)進行3場次試驗，以小胡瓜(868)育苗至第2片本葉生長後定植，種植方式為一畦2行，行間距200cm x 45cm，



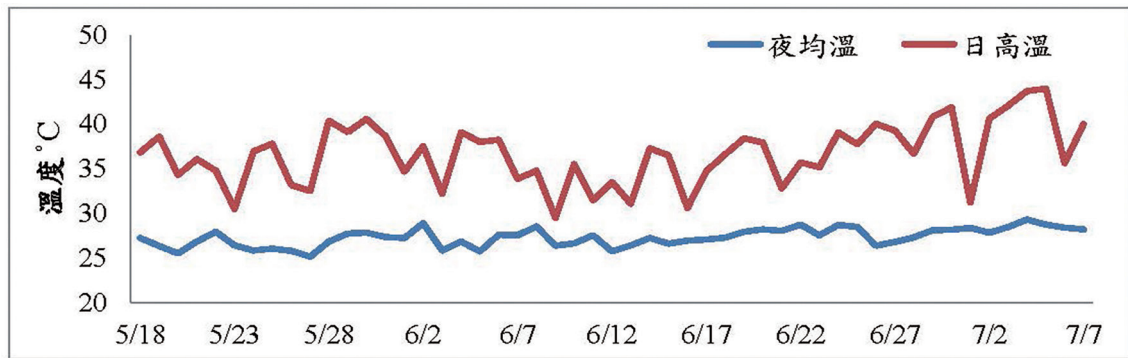
以逢機完全集區試驗設計(RCBD)4重複，集區重覆數為40株/18m²，記錄設施內環境溫度(長治試驗田)、總產量、平均良果重、良果率、過氧化氫酶(Catalase，以下簡稱CAT) (Aebi, 1974)及抗壞血酸過氧化酶 (Ascorbate peroxidase，以下簡稱APX) (Kato & Shimizu,

1974)，並鹽分逆境試驗前進行土壤養分分析，包括pH值、電導度、土壤有機質、土壤有效性磷、鉀、鈣及鎂等。盆栽及田間試驗期間澆灌KHH13製劑、HA、HA添加KHH13製劑(菌量108 CFU/ml之KHH13製劑稀釋200倍/週，HA 20 ml/週)、對照組則為等量清水。

表一、長治鄉鹽分逆境試驗田小胡瓜栽培栽培土壤養分分析

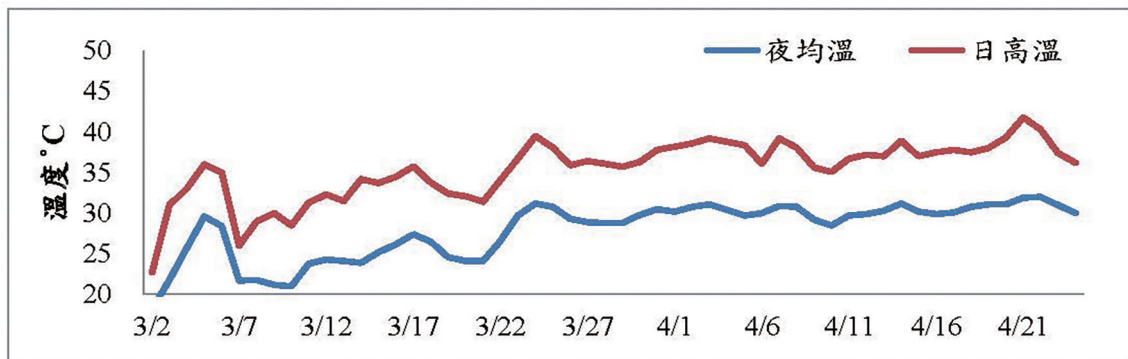
Table 1. Soil nutrient analysis of *Cucumis sativus* in the salt stressed field of Changzhi township

處理	酸鹼度 pH	有機質 %	有效性磷	有效性鉀 mg/kg	有效性鈣	有效性鎂	電導度 mS/cm
試驗土	7.42	1.75	280	480	5321	568	1.71
參考值	5.5-7.5	>2.0	50-100	100-200	1000-3000	100-250	0.2-0.6



圖一、長治小胡瓜栽培期間日高溫及夜均溫之溫度變化。

Fig. 1. Temperature variations of daily maximum and mean night temperatures during the cultivation of *Cucumis sativus* in the fields of Changzhi township.



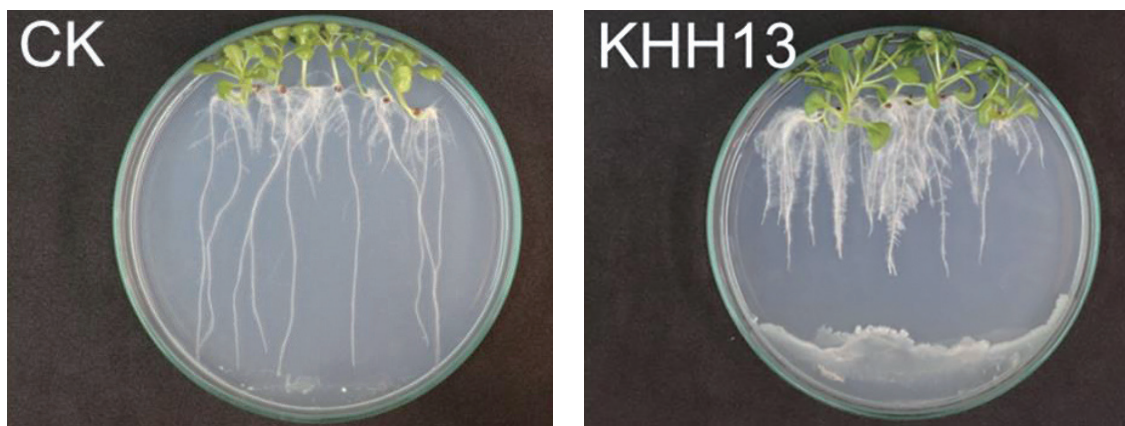
圖二、長治鹽分逆境小胡瓜栽培期間日高溫及夜均溫之溫度變化。

Fig. 2. Temperature variations of daily maximum and mean night temperatures during the cultivation of *Cucumis sativus* in the salt stress fields of Changzhi township.

結果與討論

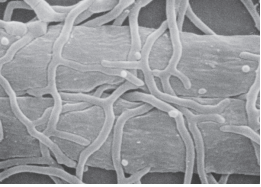
在高溫(38°C/30°C)下青梗白菜幼苗主根細長、側根少，藉由添加KHH13菌株可減少青梗白菜幼苗高溫危害、增加側根生長(圖一)。小胡瓜澆灌KHH13、HA、HA添加KHH13配方在28°C時相較於對照組提升23.39-41.34%生物量(圖四、表二)，與Pishchik等人(2018)研究結果相同，微生物製劑與特定比例之腐植酸共同使用時，可促進作物生長、提升產量；44°C耐熱處理下，對照組及HA處理萎凋率達66%，KHH13處理及HA添加KHH13處理組未有萎凋情形(圖五、表三)，且作物高溫逆境之生物量表現比對照組增加15-51%，表示KHH13製劑及添加HA配方可提升小胡瓜(飛揚)耐熱表現，並提升生物量及降低萎凋率。以小胡瓜進行內埔鄉田間熱逆境試驗，試驗產量調查為7日，KHH13處理與HA添加KHH13處理總產量及良果率有高於對照組之趨勢，其中

KHH13處理較對照組產量增加13%達顯著差異，KHH13處理與HA添加KHH13處理組良果率、CAT及APX皆有提升(表四)；以小胡瓜進行長治鄉田間熱逆境試驗(表五)，試驗產量調查為21日，KHH13處理與HA添加KHH13處理總產量顯著高於對照組，良果率提高近4%；以小胡瓜(868)進行長治鄉田間鹽分熱逆境試驗(表六)，試驗前土壤電導為1.71 mmhos/cm高於瓜菜類土壤推薦標準0.2-0.6 mmhos/cm為鹽分逆境之土壤環境，試驗產量調查為18日，HA添加KHH13處理總產量及良果率顯著高於對照組13%及19%。綜合上述試驗結果，HA添加KHH13可有效增加作物於高溫環境之苗期存活率、抗氧化酶生成(CAT、APX)、促進作物生長、提高作物產量及良果率，與Cha等人(2020)及Park等人(2017)試驗結果相同，確立HA添加KHH13高溫逆境下可有效提升瓜菜類、短期葉菜類之耐熱能力。



圖三、*Bacillus velezensis* KHH13對短期葉菜類苗期根部生長表現。

Fig. 3. Performance of *Bacillus velezensis* KHH13 on seedling root growth of spoon cabbage.



圖四、施用 *Bacillus velezensis* KHH13 及配方對 2 葉齡小胡瓜適合生長溫度 28°C 表現。(CK: 對照組、KHH13: *B. v.* KHH13 製劑、HA: 提升耐熱能力配方、HA+KHH13: 提升耐熱配方添加 *B. v.* KHH13 製劑)。

Fig. 4. Application of *Bacillus velezensis* KHH13 and formulations to *Cucumis sativus* seedlings at 28°C.

表二、施用 *Bacillus velezensis* KHH13 及配方對 2 葉齡小胡瓜適合生長溫度 28°C 表現 (CK: 對照組、KHH13: *B. v.* KHH13 製劑、HA: 提升耐熱能力配方、HA+KHH13: 提升耐熱配方添加 *B. v.* KHH13 製劑)

Table. 2. Application of *Bacillus velezensis* KHH13 and formulations to *Cucumis sativus* seedlings at 28°C

處理	SPAD 值		乾重(g)		生物量增加率 (%)
	試驗前	試驗後	地上部	地下部	
CK	37.9a	35.7a	0.81a	0.23a	100
KHH13	37.3a	35.8a	0.93a	0.35a	123
HA	37.1a	36.6a	1.09a	0.37a	141
HA+KHH13	38.1a	36.5a	1.07a	0.39a	139

*每一數值為 3 重複之平均值，同行數值後之小寫因文字母不同者表具顯著差異 ($p < 0.05$)



圖五、施用*Bacillus velezensis* KHH13及配方對2葉齡小胡瓜高溫44° C逆境表現。(CK:對照組、KHH13: *B. v.* KHH13製劑、HA:提升耐熱能力配方、HA+KHH13:提升耐熱配方添加 *B. v.* KHH13製劑)。

Fig. 5. Application of *Bacillus velezensis* KHH13 and formulations to *Cucumis sativus* seedlings at 44°C under heat stress.

表三、施用*Bacillus velezensis* KHH13及配方對2葉齡小胡瓜高溫44° C逆境表現(CK:對照組、KHH13: *B. v.* KHH13製劑、HA:提升耐熱能力配方、HA+KHH13:提升耐熱配方添加 *B. v.* KHH13製劑)

Fig. 3. Application of *Bacillus velezensis* KHH13 and formulations to *Cucumis sativus* seedlings at 44°C under heat stress

處 理	SPAD 值		乾重(g)		生物量增加率 (%)	萎凋率(%)
	熱逆境處理前	熱逆境處理後	地上部	地下部		
CK	37.9a	36.2a	0.21b	0.05b	100	66
KHH13	39.6a	36.6a	0.30a	0.10a	151	0
HA	38.8a	37.7a	0.23b	0.07b	115	66
HA+KHH13	38.2a	37.6a	0.25b	0.05b	115	0

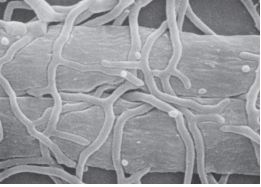
*每一數值為3重複之平均值，同行數值後之小寫因文字母不同者表具顯著差異($p<0.05$)

表四、施用KHH13製劑及配方對內埔高溫逆境試驗田設施小胡瓜園藝性狀之表現(CK:對照組、KHH13: *B. v.* KHH13製劑、HA+KHH13:提升耐熱配方添加 *B. v.* KHH13製劑)

Table 4. Horticultural characteristics of *Cucumis sativus* with *Bacillus velezensis* KHH13 and formulations under the heat stress in Neipu township

處 理	總產量 (kg/0.1ha)	正常果數 (No./0.1ha)	正常果重 (kg/0.1ha)	異常果數 (No./0.1ha)	異常果重 (kg/0.1ha)	良果率 (%)	CAT (μ mol/min/mg)	APX
CK	746b	5926a	676a	1185a	70a	83.62a	5.71	23.00
KHH13	848a	6629a	764a	1000a	84a	87.01a	6.07	25.43
HA+KHH13	786b	6073a	719a	888a	67a	87.27a	5.74	29.43

* 每一數值為4重複之平均值，同行數值後之小寫因文字母不同者表具顯著差異($p<0.05$)，調查期間為7/11-7/17，共7日總量之數據。



表五、施用KHH13製劑及配方對長治高溫逆境試驗田設施小胡瓜園藝性狀之表現CK:對照組、KHH13: *B. v. KHH13*製劑、HA+KHH13:提升耐熱配方添加 *B. v. KHH13*製劑)

Table 5. Horticultural characteristics of *Cucumis sativus* with *Bacillus velezensis* KHH13 and formulations under the heat stress in Changzhi township

處 理	總產量 (t/0.1 ha)	良果率 (%)
CK	2.47b	81.65a
KHH13	3.01a	85.33a
HA+KHH13	3.13a	85.42a

* 每一數值為4重複之平均值，同行數值後之小寫因文字母不同者表具顯著差異($p < 0.05$)，調查期間為6/16-7/6，共21日總量之數據。

表六、施用KHH13配方對長治鹽分逆境試驗田設施小胡瓜園藝性狀之表現CK:對照組、HA+KHH13:提升耐熱配方添加 *B. v. KHH13*製劑)

Table 6. Horticultural characteristics of *Cucumis sativus* with *Bacillus velezensis* KHH13 formulations under the salt stress in Changzhi township

處 理	總產量 (t/0.1 ha)	良果率 (%)
CK	2.25b	49.46b
HA+KHH13	2.58a	68.67a

* 每一數值為4重複之平均值，同行數值後之小寫因文字母不同者表具顯著差異($p < 0.05$)，調查期間為4/6-4/23，共18日總量之數據。

誌 謝

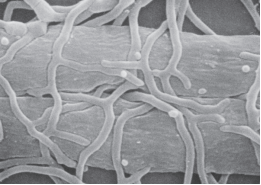
本研究承蒙農業部動植物防疫檢疫署「發展農業用微生物加值應用技術增加作物對環境逆境的緩解能力」計畫的經費贊助，特此感謝。同時，感謝高雄區農業改良場主管及研究室全體同仁在研究過程中的協助與支持，以及所有在學術討論中給予寶貴意見的專家學者們。

參考文獻

1. Aebi, H. 1974. Catalase. In: Methods of enzymatic analyses, ed. Bergmeyer, H.U. pp. 673-683. New York: Academic Press.
2. Cha, J. Y., Kang, S. H., Ali, I., Lee, S. C.,

- Ji, M. G., Jeong, S. Y., Shin, G. I., Kim, M. G., Jeon, J. R., Kim, W. Y. 2020. Humic acid enhances heat stress tolerance via transcriptional activation of Heat-Shock Proteins in *Arabidopsis*. *Sci. Rep.* 10, 15042.
3. Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Ihsan, M. Z. 2017. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Front. Plant Sci.* 8, 1147.
4. Glick, B. R. 2014. Bacteria with ACC-deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* 169, 30-39.
5. Kato, M., Shimizu, S. 1987. Chlorophyll

- metabolism in higher plants. VII. Chlorophyll degradation in senescing tobacco leaves; phenolic-dependent peroxidative degradation. *Can. J. Bot.* 65, 729-735.
6. Khan, M. A., Asaf, S., Khan, A. L., Jan, R., Kang, S. M., Kim, K. M., Lee, I. J. 2020. Extending thermos tolerance to tomato seedlings by inoculation with SA1 isolate of *Bacillus cereus* and comparison with exogenous humic acid application. *BMC Plant Biol.* 20(1), 248.
 7. Park Y. G., Mun, B. G., Kang, S. M., Hussain, A., Shahzad, R., Seo, C. W., Kim, A. Y., Lee, S. U., Oh, K. Y., Lee, D.Y. 2017. *Bacillus aryabhatai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. *PLoS ONE* 12, e0173203. doi: 10.1371/journal.pone.0173203
 8. Pishchik, V. N., Vorobyev, N. I., Ostankova, Y. V., Semenov, A. V., Totolian, A. A. 2018. Impact of *Bacillus subtilis* on tomato Plants growth and some biochemical characteristics under combined application with humic fertilizer. *Int. J. Plant Soil Sci.* 22, 1-12.



Study on the Application of Microbe Preparations and Formulations for Alleviating Heat Stress in *Cucumis sativus*

Po-Hsun Chang Liao¹, Tai-Yuan Chen¹, Pei-Hsuan Ko² and Yao-Tsung Chang^{3*}

¹ Assistant Researcher, Crop Environment Section, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Ministry of Agriculture, Pingtung, Taiwan, ROC.

² Research Assistant, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Pingtung, Ministry of Agriculture, Pingtung, Taiwan, ROC.

³ Associate Researcher, Crop Environment Section, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Pingtung, Ministry of Agriculture, Pingtung, Taiwan, ROC.

* Corresponding author, e-mail: ytc@mail.kdais.gov.tw

ABSTRACT

In this experiment, the soil microorganism *Bacillus velezensis* KHH13 (referred to as KHH13) was cultured into a microbial preparation and applied to the cultivation of summer vegetables such as cabbage seedlings and *Cucumis sativus*. It was found that KHH13 could help to reduce heat stress damage and increase the number of lateral roots in the heat stress environment. The biomass performance of the KHH13-treated group and heat tolerance improvement formulas (referred to as HA) addition KHH13-treated group increased by 15.38-51.85% compared with that of the control group under heat stress, and the wilting rate of the control group reached 66% under the heat-resistant treatment at 44°C, whereas no wilting occurred in the KHH13-treated group and the HA addition KHH13-treated group. The KHH13-treated group and the HA-added KHH13-treated group were able to increase the yield and improve the yield of good fruits under the heat stress field test.

Keywords: Microbial preparation, Heat stress, Crop heat tolerance