

中華民國第 65 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組 生活與應用科學科(二)

第三名

032913

點糞成金—堆肥蚯蚓糞菌促進農作物生長能力
之分析研究

學校名稱：慈濟學校財團法人慈濟大學附屬高級中學

作者： 國二 王亮璇 國二 羅晨昀 國二 李厚靜	指導老師： 林麗君
---	------------------

關鍵詞：堆肥蚯蚓、糞菌、農作物

摘要

本研究從三種堆肥蚯蚓（歐洲紅蚯蚓、印度藍蚯蚓、非洲夜蚯蚓）的糞土中分離出 7 株可促進油菜、番茄、草莓生長，並具有協助農作物抗逆境潛力的微生物。菌種鑑定後發現分屬於 *Glutamicibacter* 或 *Arthrobacter*、*Lelliottia*、*Pseudoxanthomonas*、*Bacillus* 或 *Priestia*、*Lysinibacillus* 等屬。菌株大多具備可分泌生長素、胞外多醣，固氮，分解果膠、纖維素、木質素，可耐鹽，耐高溫能力，我們認為這些糞菌未來將可運用於農業上，減少化肥使用，並減緩氣候變遷對農作物造成的傷害。

壹、前言

一、研究動機

現今的農業為了追求農作物精緻、美觀，大量使用化學肥料，但是化學肥料不僅對人體有害，也扼殺了許多土壤中的生物，因此有機耕作成了我們嚮往的目標。生物學家達爾文曾說「除了蚯蚓糞粒之外沒有沃土」。在台灣真善美—蚯蚓農法防治土壤酸化的影片中，電視台採訪一位因健康因素放棄都市裡的工作返鄉從事農耕的農民，他回憶小時候農田裡有許多蚯蚓，土壤肥沃，但由於化肥農藥的使用，使得蚯蚓變少，農作物產量也跟著減少，因此他想要利用復育蚯蚓，提高土壤肥沃度，農民將紅蚯蚓及生廚餘放在火龍果樹下，結果果實產量及甜度都增加了，利用蚯蚓堆肥也使芥藍菜產量增加，並降低蟲害。

蚓糞是由蚯蚓攝入有機質及土壤後排出的物質，根據研究這些糞便對植物生長有著諸多益處，例如：（一）可提供豐富的養分，例如氮、磷、鉀、鈣、鎂等植物必需的微量元素，能促進植物生長（Edwards & Burrows, 1988）。（二）蚓糞能增加土壤通氣性和排水能力，改善土壤結構，使根較容易呼吸和吸收水分；而且蚓糞能增加土壤的保水能力，減少乾旱對植物的影響（Arancon et al., 2004）。（三）蚓糞含有大量微生物，能分解有機物質，釋放養分，促進植物根系的生長，增強植物的抗病能力（Atiyeh et al., 2000）。（四）蚓糞中含有天然的激素，如生長素、細胞分裂素，能夠促進植物的細胞分裂和生長，提高植物的生長速度和產量（Dominguez & Edwards, 2011）。（五）蚓糞是一種天然肥料，能減少化學肥料的使用，降低環境污染（Edwards & Burrows, 1988）。

然而，蚓糞在使用過程中可能存在許多問題，包含：（一）蚓糞的生產需要特定的設施和管理，導致蚯蚓糞便的市場價格相對較高，對於大規模農業來說並不經濟（Gajalakshmi & Abbasi, 2004）。（二）蚓糞雖然富含多種微量元素，但其主要養分（如氮、磷、鉀）的濃度相對較低，在使用蚯蚓糞便作為肥料時，可能需要較大的施用量來滿足植物的需求

(Edwards et al., 2010)。(三) 蚓糞便過量施用或不當使用亦可能會導致土壤酸化或鹽分積累，進而影響植物的生長(Dominguez & Edwards, 2011)。(四) 蚓糞中可能含有未完全分解的有機物質，這些物質可能攜帶病原體和雜草種子，如果未經過適當的處理，病原體和雜草種子可能會對植物造成威脅，影響生物的健康(Arancon et al., 2008)。(五) 目前常見堆肥蚯蚓主要是歐洲紅蚯蚓、印度藍蚯蚓及非洲夜蚯蚓，這些外來種或歸化種蚯蚓對土壤或植被生態的影響尚待評估(賴奕德，2016)。

綜上所述，蚓糞具有許多優點，但也存在許多問題，我們想到在國一下學期自然課本第四章「生物與環境」中曾提及蘇力菌在農業生物防治上的運用，因此若能將蚓糞中有益的微生物分離出來在農業上的應用，應該具有相當良好發展前景。

二、研究目的

- (一) 分離培養三種堆肥蚯蚓(歐洲紅蚯蚓、印度藍蚯蚓、非洲夜蚯蚓)糞菌，並觀察糞菌是否會促進油菜生長。
- (二) 糞菌是否會協助其他作物生長：1.番茄。2.草莓。
- (三) 糞菌是否會幫助油菜抗逆境：1.耐鹽。2.耐高溫。3.耐旱。4.抗蟲害。
- (四) 分析糞菌各種促進植物生長特性：1.分泌生長素。2.固氮。3.分解纖維素、木質素、果膠。4.溶磷。5.分泌胞外多醣。6.分解水楊酸。7.耐鹽。8.耐高溫。9.耐酸鹼。10.抑制大腸桿菌。
- (五) 菌種鑑定。

三、文獻探討

(一) 常見堆肥蚯蚓

臺灣常見的堆肥蚯蚓是歐洲紅蚯蚓、印度藍蚯蚓及非洲夜蚯蚓，茲分別簡述如下：

1.歐洲紅蚯蚓、安卓愛勝蚓(*Eisenia fetida* 或 *Eisenia andrei*)

歐洲紅蚯蚓的飼養與繁殖較為容易，是堆肥蚯蚓中最被推薦的品種，歐洲紅蚯蚓主要生活於土壤表層，植食性，繁殖時最適溫度為 25°C，濕度 80~85%。歐洲紅蚯蚓雖然是外來種，也常被宗教團體購買放生，但野外環境較不適合其生長，因此尚未在臺灣建立野生族群(賴亦德，2023，2018，2016)。

2.印度藍蚯蚓、掘穴環爪蚓(*Perionyx excavatus*)

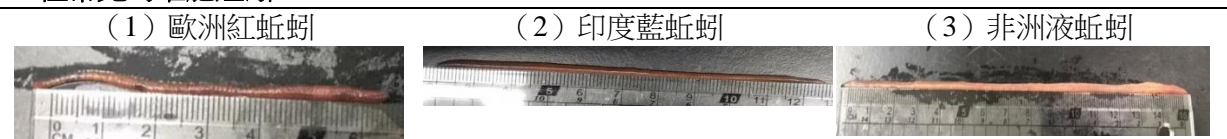
印度藍蚯蚓亦喜歡生活在土壤表層，植食性，最適溫度為 25~37°C，偏好濕度 80%。印度藍蚯蚓在南亞、東南亞、臺灣皆有分布，因為最初被發現地點在印度，所以

命名為印度藍蚯蚓，印度藍蚯蚓在臺灣出現年代已不可考，因此被歸類為臺灣原生種或歸化種（賴亦德，2023，2018，2016）。

3. 非洲夜蚯蚓、尤金真蚓（*Eudrilus eugeniae*）

非洲夜蚯蚓原產於非洲，但並不特別耐熱，繁殖最適溫度為 16~32°C，最適濕度 80%，但非洲夜蚯蚓在晚上常會爬出來在表面亂走，造成逃逸現象，在其他國家對生態造成了一些負面影響，例如：與當地物種競爭資源，降低生物多樣性或影響土壤結構和有機物質的分解，進而影響植物生長或種類。對台灣生態影響尚有待審慎評估。（賴亦德，2023，2018，2016）。

圖 1
三種常見的堆肥蚯蚓



註：研究者自攝

（二）蚯蚓糞菌的相關研究

許多研究者曾以歐洲紅蚯蚓、印度藍蚯蚓及非洲夜蚯蚓進促進植物生長試驗，發現可以促進農作物生長。馮昶鈞（2021）以歐洲紅蚯蚓及印度藍蚯蚓進行研究，分別利用米糠、豬糞或高麗菜餵食蚯蚓並進行盆栽試驗，結果發現施用不同蚓糞堆肥皆可提高土壤有機質、磷、硫、鉀、鈣、鎂含量，有助增進土壤肥力，最後土白菜因為氮及硫含量增加而使斜紋夜蛾幼蟲生長呈下降趨勢。Garcia 等（2024）則以歐洲紅蚯蚓堆肥進行研究，發現堆肥可促進番茄生長，並使番茄根際細菌群落組成產生了顯著改變，而且蚯蚓堆肥組的番茄植物營養轉運蛋白基因較為活化，證明了來自蚯蚓堆肥的根際微生物可以調控番茄生長相關的基因表現，增強植物地上部生物量和葉片氮含量。

但是對於蚯蚓糞土中的微生物種類分析的研究則常常有不一致的結果。Wonnapijit 等（2022）利用新一代定序技術來鑑定不同飼養條件下非洲夜蚯蚓、印度藍蚯蚓、歐洲紅蚯蚓腸道和糞便中微生物，結果共鑑定出 580 個屬，43 個門，例如：類芽孢桿菌、叢毛單胞菌、噬細胞菌、檸檬酸桿菌、針狀鏈黴菌、馬杜拉放線菌、伯克氏菌等，其中有許多細菌可分解纖維素和促進植物生長，但也不乏致病菌，文章中指出微生物組成會受到飼養條件及蚯蚓種類產生差異。簡紹祐（2015）則針對蚓糞堆肥的安全性提出了評估，論文中指出未經處理的廢棄物常會有重金屬、雜草種子、寄生蟲卵和病原菌，而傳統堆肥溫度大於 55°C，若持續三天以上可殺死大部分病原菌、寄生蟲卵和雜草種子，但蚓糞堆肥溫度通常不超過 30°C，消滅病原菌的效果較差，對於人體可能存在許多風險。他

以歐洲紅蚯蚓及菇類養殖廢棄物為基底，進行米糠、豬糞、水果的分批堆肥及未分批堆肥，測試大腸桿菌和沙門氏菌含量，結果發現分批堆肥 56 天，大腸桿菌和沙門氏菌並沒有減少趨勢，而未分批堆肥才能提高溫度，減少病原菌數，但蚯蚓存活率可能因此降低。

（三）微生物在農業上的應用

自然環境中存在許多微生物，而許多微生物與植物也共同演化出複雜的互利共生關係，植物根部會分泌各種有機質吸引並餵養這些微生物，微生物也為植物提供了許多功能。近年來已陸續開發出許多可運用於農業的微生物，例如：酵母菌群、乳酸菌群、醋酸菌群、芽孢桿菌群、放線菌群、光合菌群、雙歧桿菌群、木黴菌、菌根菌等，各自具有不同促進植物生長功能。但我們好奇在蚯蚓糞土是否也存在這些植物益生菌，因此在分離培養出菌種後，將進行以下功能分析：

1.分泌生長素（IAA，indole—3—acetic acid，吲哚乙酸）

IAA 是一種植物激素，廣泛存在植物分生組織，濃度很低時即能發揮作用，具有使植物細胞擴張、伸長及根莖的伸長等特性，可促進種子發芽、葉片擴大、維管束組織分化、花器成熟、果實成熟，並且抑制花、果實及幼葉過早脫落等功能（周林，2015）。目前已發現細菌與植物細胞合成 IAA 的途徑類似，皆會使用色胺酸為原料，有些微生物還會利用 IAA 作為在植物體中拓殖的一種策略（Spaepen et al., 2007）。此外，微生物還會藉由生產 IAA，促進植物根系生長，進而增加氮、磷、鉀、鈣、鎂等營養素吸收（張鈞喆，2016）。

2.固氮

氮氣不能直接被植物利用，需要藉由閃電或微生物固氮，將氮氣轉化為氨才能被植物吸收，用以合成蛋白質，一般常用於生物肥料的固氮菌種為細菌、放射菌及藍綠菌等，固氮菌的應用可減少氮肥使用，避免環境中氮的汙染及土壤酸化，並提高農作物產量（楊秋忠，1994）。文獻指出當豆科植物缺氮時，會分泌甜菜鹼、類黃酮和異黃酮召喚固氮菌來幫忙，形成根瘤一同工作，同時也會讓相同區域其他植物一同受惠。另有研究指出接種固氮菌的植物會生長更高大，產生更多花蕾和花朵，使花朵密度提高，花朵顏色對蜜蜂視覺的對比度更強，開花時間更早且穩定，可幫助植物吸引更多的授粉者，使植物看起來更迷人（葉綠舒，2024）。

3.分解纖維素、木質素、果膠

在植物初生細胞壁中，主要的碳水化合物是纖維素，半纖維素和果膠，纖維素與半纖維素連接形成複雜網絡，再嵌入果膠；植物的次生細胞壁中則含有纖維素、木聚糖及

木質素等，可使植物更堅韌，或構成木材（維基百科，2024）。

纖維素是由葡萄糖組成的多醣，結構穩定難以破壞，農業廢棄物或植物體本身含有大量纖維素，若土壤中具纖維素分解微生物，則可提高土壤肥力。目前已知自然界中一些細菌、真菌、放射菌等具有纖維素分解能力，一些草食動物或昆蟲腸道內亦具有纖維素分解菌可分解纖維素，提供養分（齊倍慶，2001）。

果膠（pectin）是以半乳糖醛酸和甲醇為主要成分的雜多醣，以不同濃度廣泛分佈於植物的中膠層和細胞壁。可分解果膠的微生物則有助於分解植物堅韌的細胞壁，並將營養物質釋放回環境中，常見的有真菌（曲霉屬、青黴屬和木黴屬）、細菌（芽孢桿菌屬、梭菌屬和假單胞菌屬）、酵母（包括念珠菌和酵母菌）、藻類（小球藻和衣藻）等（Mosaad, 2022）。

木質素（lignin）由大量芳香族環類構成，較纖維素難分解，植物木質部含有大量木質素，可使植物的莖具有較高硬度支撐整株植物重量。可降解木質素的微生物主要為真菌或細菌（鏈黴菌、紅球菌、假單胞菌、芽孢桿菌和腸桿菌）等（Atiweh et al., 2022）。

4.溶磷

磷是生物體遺傳物質成分，對細胞分裂及分生組織的發育非常重要，磷與生物體能量生化反應關係密切，許多酵素代謝都需依賴磷酸化作用。農民所施用的磷肥極易被土壤固定，使之呈現不易溶解狀態，在 pH7.5 以上之鹼性土中，磷易被鈣固定為磷酸鈣，在 pH5.5 以下之酸性土中，磷易被固定為磷酸鐵及磷酸鋁，常導致植物不僅缺磷，亦缺鈣、鐵現象（黃文益，2013）。儲存在土壤中不被植物所利用的磷，可藉由溶磷菌的幫助，將原本植物無法吸收利用的型態轉化為可吸收利用的養分。常見的溶磷菌包括細菌（假單胞菌，芽孢桿菌，硫桿菌）及真菌（青黴屬，曲霉屬）等（楊秋忠，2011）。

5.分泌胞外多醣（Exopoly saccharides，EPS）

胞外多醣是微生物分泌到環境中的高分子天然聚合物，可促進細菌細胞間的凝聚力，使微生物聚集形成生物膜，為微生物提供支持及保護效果，進而協助細菌附著在植物根部和土壤顆粒，建立共生關係（Ghosh et.al, 2016）。微生物分泌的胞外多醣亦有助於土壤團聚，增加土壤透水性、穩定性，促進植物根部吸收養分，提高植物生物量、葉綠素含量、根和芽長度以及葉表面積。胞外多醣還有助於維持植物乾旱脅迫期間的生理活動，並透過與土壤中的鈉離子結合，阻止鈉離子到達莖來提升植物耐鹽性（Bhagat et.al, 2021）。

6.分解水楊酸（Salicylic acid，SA）

水楊酸是一種植物激素，可調節植物的生長發育，對植物的光合作用、蒸散作用與離子的吸收與運輸具有調節作用，同時也可以誘導植物細胞的分化與葉綠體的生成。水楊酸還可促進植物體對病菌產生及增加抗性，誘發植物體系統性後天性抗性（systemic acquired resistance, SAR），當病原體第一次感染植物，便會刺激鄰近區域產生過敏性反應並合成 SA，SA 經由韌皮部運輸至其他部位，誘導植物產生抗病性，避免其他病原體的再次感染（劉頌恩，2003）。研究指出一種植物擬南芥除了會藉由水楊酸保護植物嫩芽和葉子健康，並同時藉由水楊酸引導根部微生物群落生長，提高對熱、乾旱和酸等環境耐受力，進而幫助植物獲得營養（Lebeis et al., 2015）。

7.耐鹽、耐高溫、耐鹽鹼能力

氣候變遷造成許多農作物無法順利生長，因此微生物若能協助農作物耐高溫、耐鹽鹼，將有助於提升農作物產量。韓國忠北大學與愛沙尼亞生命科學大學研究人員在水稻中接種 *Brevibacterium. linens* RS16，發現菌株可減緩鹽分逆境對植物的影響，提升葉片光合作用效率（農業科技決策資訊平台，2018）。中興大學團隊曾在高美濕地從鹽澤植物「雲林莞草」中篩出內生菌 *Bacillus* sp.BP01-R1 與 *Pseudomonas* sp.BP02-R8，發現能有效提升阿拉伯芥抵抗鹽分逆境的能力（農傳媒，2019）。因此微生物具有極大潛力協助農作物抗逆境，值得我們深入探討。

貳、主要研究設備及器材

圖 2

主要實驗器材



註：研究者自攝

無菌操作台，滅菌釜，恆溫震盪培養箱，盤式分光光度計，接種環（loop），微量吸管，離

心機，離心管，振盪器，培養皿，燒杯，鋁箔紙，牙籤，油菜、番茄、草莓種子，育苗盒，三吋盆，血清瓶，96孔盤，鑷子，植物燈，蚯蚓，米糠粉，培養土，MRS，TSB，Agar，次氯酸鈉， $C_6H_{14}O_6$ (mannitol)， K_2HPO_4 ， KH_2PO_4 ， $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ，NaCl，CMC，pectin，lignin，Salicylic acid， $(NH_4)_2SO_4$ ， $Ca_3(PO_4)_2$ ， H_2SO_4 ， $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ，IAA，congo red

參、研究過程或方法

一、蚯蚓糞菌的分離與純化

(一) MRS 培養基

1. 配方：MRS 粉末 5.5%，agar 粉末 1.5%。pH 值約為 6.5 ± 0.2 。
2. 大多數蔬果在 pH 值為 6~7 的土壤中生長最好，因此我們選用 MRS 培養基進行初步篩選。

(二) TSA 培養基

1. 配方：TSB 粉末 3%，agar 粉末 1.5%。pH 值約 7.3 ± 0.2 。
2. TSB (Tryptic soy broth，胰蛋白大豆瓊脂培養液) 是一種廣泛性細菌生長培養基。

(三) 糞菌分離與純化

1. 自蚯蚓繁殖場購買印度藍蚯蚓、非洲液蚯蚓、歐洲紅蚯蚓等蚯蚓各 30 隻，清洗後均放入混合米糠粉的園藝用培養土中飼養一個月。
2. 取三種蚯蚓各 20 隻，以二次過濾水及無菌水反覆沖洗蚯蚓體表土壤，再放入無菌培養中，收集 1 小時中蚯蚓釋放出的糞土。
3. 以 loop 沾取糞土，以分區畫線法劃入 MRS 培養基中，將培養基放在 $28^\circ C$ 培養箱中生長 2 天。
4. 挑選不同型態顏色菌落再劃入 MRS 培養基中進行純化。
5. 挑選各菌株單一菌落已滅菌過的牙籤刺在 TSA 上，觀察菌落生長情形。

二、糞菌是否會促進油菜生長

(一) 菌液培養

1. 挑選菌落接種於 10 ml MRS 培養液中， $28^\circ C$ 恆溫震盪培養 2 天。
2. 離心 4000 rpm，10 分鐘，去除上清液。加入無菌水，調整 $OD_{600} = 0.5$ 。

(二) 種子處理

1. 種子泡水靜置一夜。將種子放入無菌培養皿中，加入 1% 次氯酸鈉水搖晃 30 秒後倒掉，重複 3 次，再加入無菌水搖晃 30 秒後倒掉，重複 3 次

- 2.每一種菌液加入 20 顆種子後放置 5 分鐘。
- 3.在育苗盒中放入滅菌過的培養土，澆灌過濾水至水從盆栽下方流出。各組放入 20 顆接過菌的種子。
- 4.室溫種植（約 27~32℃），12 小時光照，12 小時黑夜，每天澆灌一次菌水 1 ml（對照組加過濾水 1 ml）、過濾水 5 ml，7 天後觀察根莖長。
- 5.利用統計軟體 SPSS 27 進行統計檢定。

三、糞菌是否會協助其他作物生長：

- （一）挑選菌落接種於 10 ml MRS 培養液中，28 °C，200 rpm 恆溫震盪培養 2 天。
- （二）離心 4000 rpm，10 分鐘，去除上清液，以無菌水調整 OD₆₀₀=0.5。
- （三）在育苗盆中放入培養土，澆灌水至水從盆栽下方流出。
- （四）每組放入 20 顆番茄或草莓的種子，室溫種植（約 10~25℃），以植物燈照光 12 小時，黑暗 12 小時處理。
- （五）每隔兩天噴灑菌液 1 ml、過濾水 5 ml，觀察植株生長情形（測量番茄莖長度，並以 image J 測量草莓葉片面積）。

四、糞菌是否會幫助油菜抗逆境

- （一）抗鹽逆境：
 - 1.挑選菌落接種於 10 ml MRS 培養液中，28 °C，200rpm 恆溫震盪培養 2 天。
 - 2.離心 4000 rpm，10 分鐘，去除上清液，以無菌水調整 OD₆₀₀=0.5。
 - 3.將油菜種子放入無菌培養皿中，加入 1%次氯酸鈉水搖晃 30 秒後倒掉，重複 3 次，再加入無菌水搖晃 30 秒後掉倒掉，重複 3 次。
 - 4.在育苗盆中放入培養土，澆灌水至水從盆栽下方流出。每組放入 30 顆種子，室溫種植（約 10~25℃），以植物燈照光 12 小時，黑暗 12 小時處理，每隔 2 天澆灌過濾水 5 ml。一週後保留莖長 2~3 公分植株，每組各 15~20 棵。
 - 5.第 8~13 天時，每隔 2 天澆灌菌水 1 ml（對照組加過濾水 1 ml）、3.5%鹽水 5 ml。
 - 7.在第 14 天時進行莖長度測量。

表 1
菌株協助油菜抗鹽逆境實驗設計

日數	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
處理方式	每隔2天澆過濾水5 ml，第7天每組保留莖長2~3公分植株各15~20棵								每2天澆灌一次菌水1 ml、3.5%鹽水5 ml						觀測

(二) 抗高溫逆境：

- 1.挑選菌落接種於 10 ml MRS 培養液中，28°C，200 rpm 恆溫震盪培養 2 天。
- 2.離心 4000 rpm，10 分鐘，去除上清液，以無菌水，調整 OD₆₀₀=0.5。
- 3.將油菜種子放入無菌培養皿中，加入 1%次氯酸鈉水搖晃 30 秒後倒掉，重複 3 次，再加入無菌水搖晃 30 秒後掉倒掉，重複 3 次。
- 4.在育苗盆中放入培養土，澆灌水至水從盆栽下方流出。每組放入 30 顆種子，室溫種植（約 10~25°C），以植物燈照光 12 小時，黑暗 12 小時處理，每隔 2 天澆灌過濾水 5 ml。一週後保留莖長 2~3 公分植株，每組各 15~20 棵。
- 5.在第 8~10 天時，每天澆灌菌水 1ml（對照組加過濾水 1 ml）、過濾水 10 ml。
- 6.停止澆灌 2 天後，將植株放入 45°C生長箱中處理 60 min，回溫後澆過濾水 10 ml，2 天後觀察莖長。

表 2

菌株協助油菜抗高溫逆境實驗設計

日數	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
處理方式	每隔2天澆過濾水5ml，第7天每組保留莖長2~3公分植株各15~20棵								每天澆灌菌水1ml、過濾水5ml			停止澆灌		45°C，60min，過濾水10ml	停止澆灌		觀測

(三) 抗缺水逆境：

- 1.挑選菌落接種於 10 ml MRS 培養液中，28 °C，200 rpm 恆溫震盪培養 2 天。
- 2.離心 4000 rpm，10 分鐘，去除上清液，以無菌水，調整 OD₆₀₀=0.5。
- 3.將油菜種子放入無菌培養皿中，加入 1%次氯酸鈉水搖晃 30 秒後倒掉，重複 3 次，再加入無菌水搖晃 30 秒後掉倒掉，重複 3 次
- 4.在育苗盆中放入相等體積培養土，澆灌水至水從盆栽下方流出。每組放入 30 顆種子，室溫種植（約 10~25°C），以植物燈照光 12 小時，黑暗 12 小時處理，每隔 2 天澆灌過濾水 5 ml。一週後保留莖長 2~3 公分植株，每組各 15 棵。
- 5.在第 8~10 天時，每天澆灌菌水 1 ml（對照組加過濾水 1 ml）、過濾水 5 ml。
- 6.停止澆灌 14 天後觀察植株生長情形。

表 3

菌株協助油菜抗缺水逆境實驗設計

日數	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11~25	26
處理方式	每隔2天澆過濾水5 ml，第7天每組保留莖長2~3公分植株各15棵。								每天澆灌菌水1 ml及過濾水5 ml			停止澆灌	觀測

(四) 抗蟲害：

- 1.挑選菌落接種於 10 ml MRS 培養液中，28 °C，200 rpm 恆溫震盪培養 2 天。
- 2.離心 4000 rpm，10 分鐘，去除上清液，以無菌水，調整 OD₆₀₀=0.5。
- 3.將油菜種子放入無菌培養皿中，加入 1%次氯酸鈉水搖晃 30 秒後倒掉，重複 3 次，再加入無菌水搖晃 30 秒後掉倒掉，重複 3 次
- 4.在育苗盆中放入培養土，澆灌水至水從盆栽下方流出。每組放入 30 顆種子，室溫種植（約 10~25°C），以植物燈照光 12 小時，黑暗 12 小時處理，每隔 2 天澆灌過濾水 5 ml。一週後保留莖長 2~3 公分植株各 15~20 棵。
- 5.在第 8~10 天時，每天澆灌菌水 1 ml、過濾水 5 ml。
- 6.將育苗盆放在室外，每週澆灌菌液 3 ml、過濾水 30 ml，觀察植株生長情形。

表 4

菌株協助油菜抗蟲害實驗設計

日數	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
處理方式	每隔2天澆過濾水5 ml，第7天時挑選莖長2~3公分植株每組各15~20棵。								每天澆灌菌水 1 ml、過濾水 5 ml			移至室外草地種植。每週澆灌菌水 3 ml、過濾水 30 ml。							觀察

五、糞菌各種促進植物生長特性分析

（一）分泌生長素

- 1.Salkowski's reagent：在血清瓶中加入 dd H₂O 250 ml，H₂SO₄ 150 ml，FeCl₃ 7.5 ml •6H₂O（0.5 M），血清瓶包鋁箔紙避光。

2.IAA 標準曲線

- （1）配置 2、4、6、8、10、20、30、40、50 μ/ml 濃度 IAA。
- （2）取不同濃度 IAA 各 250 μl，加入 Salkowski's 500 μl 反應試劑。
- （3）室溫避光靜置反應 30 min，觀察是否有桃紅色反應，並以盤式分光光度計測量 OD₅₃₀。
- （4）輸入 excel 畫出標準曲線，並得到線性函數。

3.菌株培養與 IAA 測量

- （1）挑選各菌株單一菌落接種於 2 ml 之 MRS 培養液中，再加入 tryptophan（100 μg/ml）80 μl，培養 7 天。
- （2）以 14000 rpm 離心 5 分鐘後取上清液 250 μl，加入 Salkowski's 500 μl 反應試劑。
- （3）室溫避光靜置反應 30 min，觀察是否有桃紅色反應，並以盤式分光光度計測量 OD₅₃₀。

(二) 固氮能力

1. Azotobacter medium : $C_6H_{14}O_6$ (mannitol) 2% , K_2HPO_4 0.1% , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02% , $NaCl$ 0.02% , $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01% , agar 1.5% 。
2. 利用牙籤挑選單一菌落，刺入培養基中，重複三次，放入恆溫箱中以 28°C 恆溫培養 2 天，觀察菌株是否生長。

(三) 分解纖維素、木質素、果膠能力

1. CMC medium : CMC 1% , $(NH_4)_2SO_4$ 0.1% , K_2HPO_4 0.2 % , KH_2PO_4 0.1% , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05% , agar 1.5% 。
2. pectin medium : pectin 1% , $(NH_4)_2SO_4$ 0.1% , K_2HPO_4 0.2 % , KH_2PO_4 0.1% , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05% , agar 1.5% 。
3. lignin medium : lignin 1% , $(NH_4)_2SO_4$ 0.1% , K_2HPO_4 0.2 % , KH_2PO_4 0.1% , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05% , agar 1.5% 。
4. 利用牙籤挑選單一菌落，刺入培養基中，重複三次，放入恆溫箱中以 28°C 恆溫培養 2 天，觀察菌株是否生長。

(四) 溶磷

1. TSA— $Ca_3(PO_4)_2$ medium : $Ca_3(PO_4)_2$ 0.5% , TSB 3% , agar 1.5% 。
2. MRS— $Ca_3(PO_4)_2$ medium : $Ca_3(PO_4)_2$ 0.5% , MRS 5.5% , agar 1.5% 。
3. 利用牙籤挑選單一菌落，刺入培養基中，重複三次，放入恆溫箱中以 28°C 恆溫培養 3 天，觀察菌株周圍是否出現透明圈。

(五) 分泌胞外多醣 (EPS)

1. MRS—congo red medium : congo red 0.1% , MRS 5.5% , agar 1.5% 。
2. 利用牙籤挑選單一菌落刺入培養基中，28°C 恆溫培養 2 天，與培養在不含 congo red 的 MRS 培養基上的菌落做比較，觀察是否呈現紅色。

(六) 分解水楊酸

1. SA medium : Salicylic acid 1% , $(NH_4)_2SO_4$ 0.1% , K_2HPO_4 0.2 % , KH_2PO_4 0.1% , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05% , agar 1.5% 。
2. 利用牙籤挑選單一菌落，刺入培養基中，28°C 恆溫培養一周，觀察菌株觀察菌株是否生長。

(七) 耐鹽

1. MRS—3.5% NaCl medium : NaCl 3.5% , MRS 5.5% , agar 1.5% 。
2. 利用牙籤挑選單一菌落，刺入培養基中，28°C 恆溫培養 2 天，觀察菌株是否生長

（八）耐高溫

- 1.挑選菌落接種於 3ml MRS 培養液中，以 28°C，200 rpm 培養 2 天。
- 2.在 3 ml MRS培養液中，加入各菌液20 µl，分別以40°C、45°C、50°C、55°C，200 rpm培養2天。測量各菌液OD₆₀₀。

（九）耐酸鹼

- 1.挑選菌落接種於 3 ml MRS 培養液中，以 28°C，200 rpm 培養 2 天。
- 2.調整MRS的pH值為5、6、7、8、9，分別在3 ml MRS培養液中，加入各菌液20 µl，以28°C，200 rpm培養2天。測量各菌液OD₆₀₀。

（十）抑制大腸桿菌測試

- 1.以 loop 挑選蚯蚓糞菌接種於含 5 ml MRS 的養菌管中，*E.coli* 接種於含 5 ml LB 的離心管中，恆溫震盪培養（28°C，200 rpm）2 天。
- 2 以棉花棒沾取 100 µl *E.coli* 菌液，均勻塗抹在 LB 培養基中。
- 3.以微量滴管吸取 1 ml 糞菌菌液放入 1.5 ml 離心管中，離心 14000 rpm，5 分鐘。
- 4.以無菌鑷子夾取紙錠（7 mm）沾取糞菌上清液，以離心管邊緣擠掉多餘液體後，將紙平貼在培養皿中。
- 5.將培養皿放入 28°C恆溫培養箱中培養 1 天，觀察是否有抑菌圈。

六、菌種鑑定

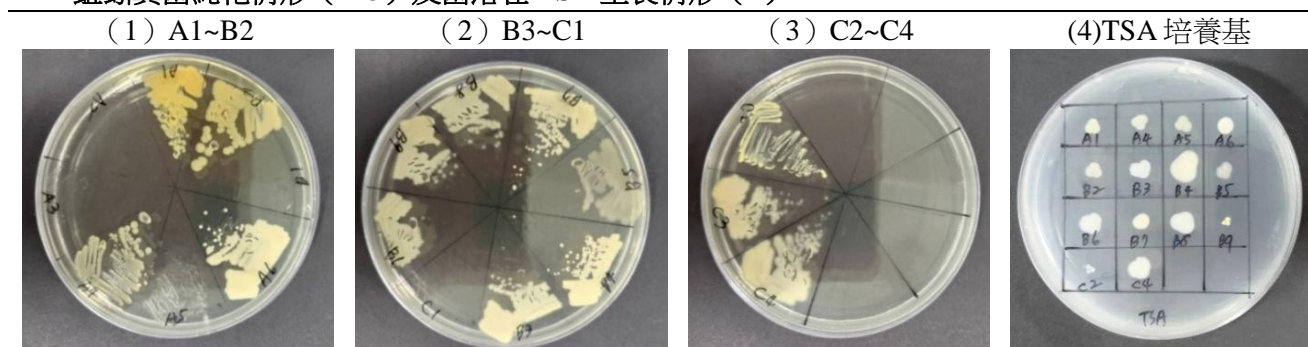
將可促進油菜生長的菌株分別畫在菌盤上，將菌盤寄送至生物科技公司進行菌種鑑定。

肆、研究結果

一、蚯蚓糞菌的分離與純化

圖 3

蚯蚓糞菌純化情形（1~3）及菌落在 TSA 生長情形（4）



註：研究者自攝

(一) MRS：我們自印度藍蚯蚓分離出 A1~A6，非洲液蚯蚓分離出 B1~B9，歐洲紅蚯蚓分離出 C1~C4。(圖 3)。部分菌株因生長情況不佳，未進行後續實驗。

(二) TSA：A1、A4、A5、B2、B3、B4、B5、B6、B7、B8、C4 生長情形較為良好，B9、C2 生長較差。

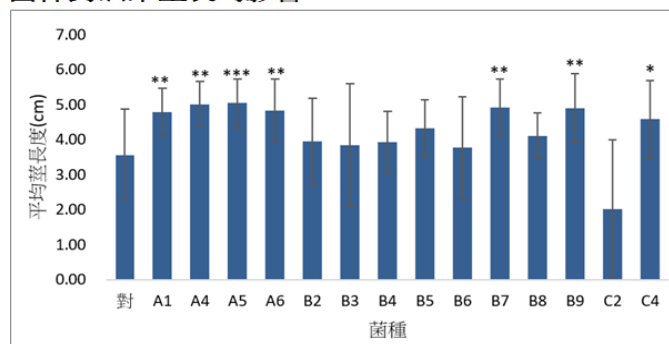
二、糞菌是否會促進油菜生長

(一) 油菜生長情形如圖 5，油菜種子的平均發芽率為 75%，因此每組取 15 株油菜進行統計分析，平均值及標準差如表 5。

(二) 以 SPSS 進行統計分析，變異數同質性檢定 (Levene 檢定)， $p=0.424>0.05$ ，三組變異數無顯著

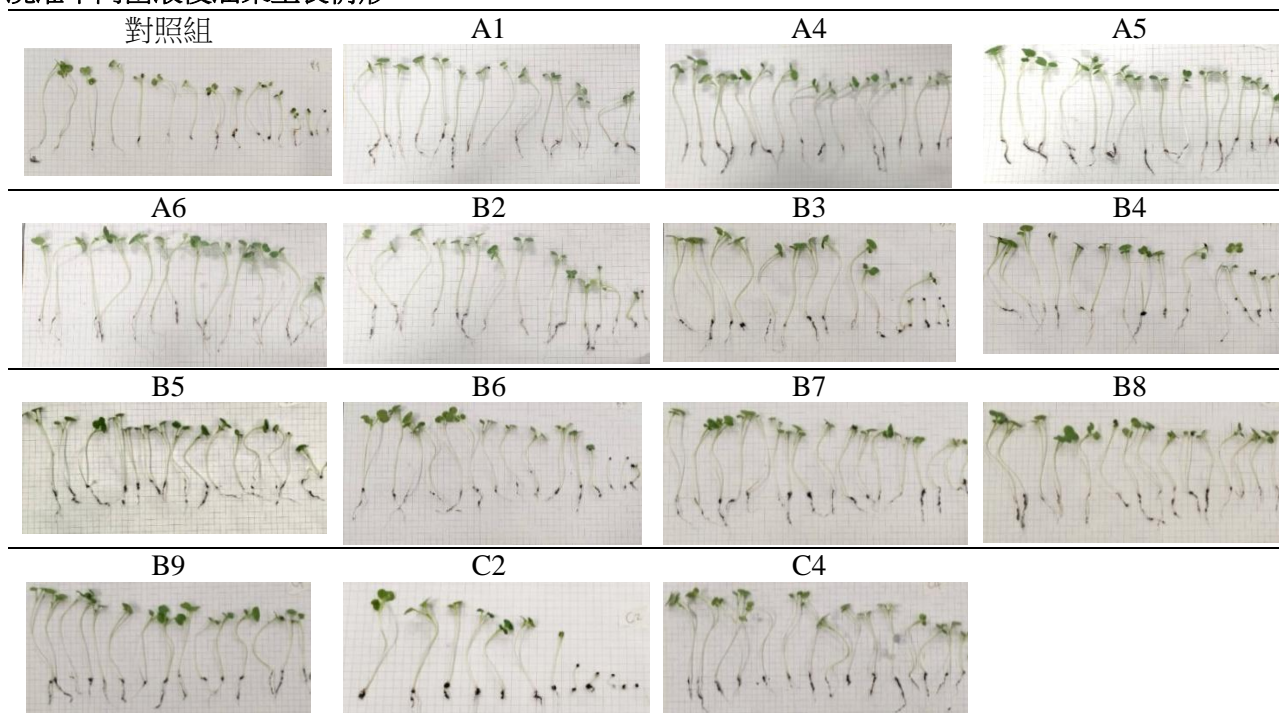
差異，變異數同質。ANOVA 分析，F 統計量達顯著 ($p<0.05$)。LSD 多重比較為 A1、A4、A5、A6、B7、B9、C4 顯著大於對照組，C2 顯著小於對照組 (表 5、圖 4)。

圖 4
菌株對油菜生長的影響



註：1.研究者自製。2.* $p<0.05$ ，** $p<0.005$ ，*** $p<0.001$ 。

圖 5
澆灌不同菌液後油菜生長情形



註：1.研究者自攝。2.方格紙中每一小格為 0.5 cm。

表 5

油菜平均莖長

	對	A1	A4	A5	A6	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	C2	C4
平均值	3.55	4.79	5.01	5.03	4.83	3.94	3.83	3.93	4.32	3.77	4.91	4.10	4.90	2.02	4.58
標準差	1.31	0.67	0.64	0.69	0.88	1.23	1.76	0.88	0.81	1.44	0.82	0.66	0.97	1.96	1.11
p 值	-	.03	.001	<.001	.002	.354	.502	.370	.067	.597	.001	.175	.004	<.001	.014

註：1.莖長度的平均值及標準差單位為公分。2.p 值為 LSD 多重比較結果。

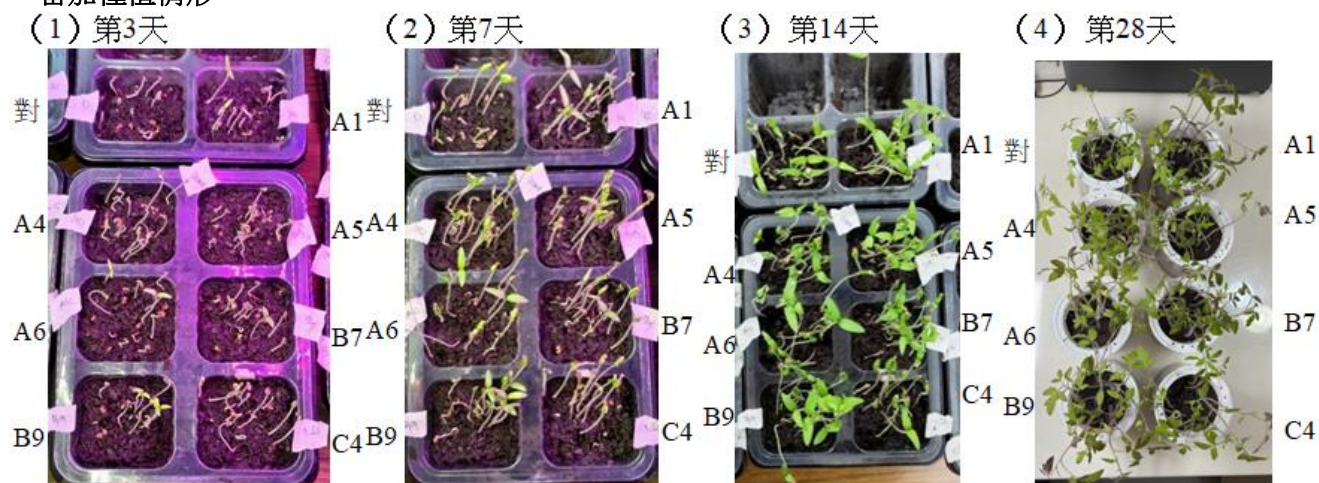
三、糞菌是否會協助其他作物生長

(一) 番茄

- 1.以7株可促進油菜生長菌株繼續進行番茄生長測試，發現糞菌組發芽率高於對照組，第7天時發芽率較依序為B9>A4>A5=C4>A1=B7>A6>對照組（圖6、表6）。
- 2.第7天時以生長情形較好的10棵進行莖長測量，統計分析發現變異數不同質（ $p=.028<.05$ ），以Dunnett T3分析均未達顯著。第14天時，統計分析變異數同質（ $p=.327>.05$ ），ANOVA分析顯著（ $p<.001$ ），LSD多重比較顯示A4、A5、A6、B7達顯著。第28天時變異數同質（ $p=.313>.05$ ），ANOVA（ $p<.001$ ）分析顯著，糞菌組皆顯著高於對照組（表6、圖7），植株的莖較粗，看起來較強健。

圖6

番茄種植情形

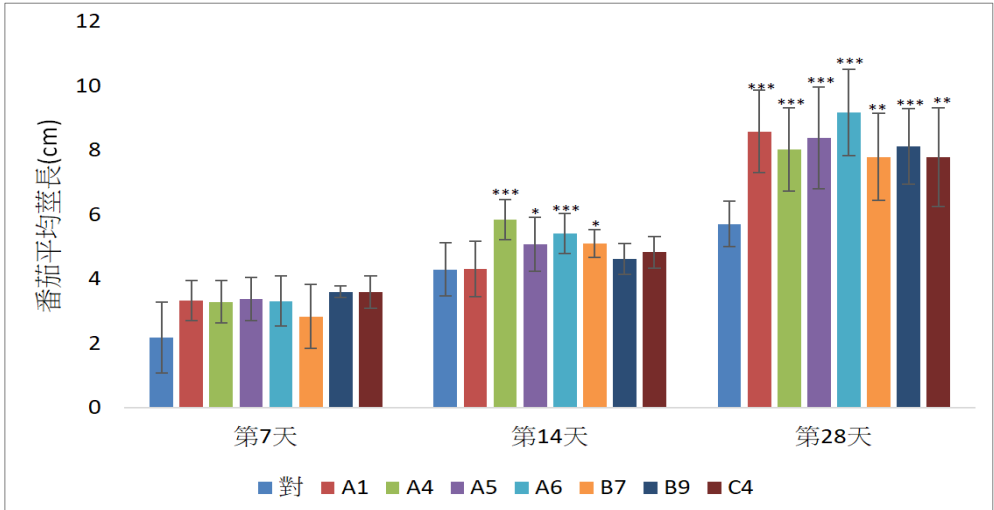


註：研究者自攝

表6
番茄莖長紀錄表

	對照組	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
發芽率	50%	70%	85%	80%	65%	70%	90%	80%
7 天莖長 (cm)	2.19±1.10	3.34±0.62	3.29±0.66	3.37±0.67	3.32±0.77	2.84±0.99	3.60±0.18	3.60±0.50
p 值	-	.221	.199	.209	.300	.978	.054	.061
14 天莖長 (cm)	4.3±0.82	4.32±0.86	5.85±0.63	5.08±0.84	5.42±0.63	5.11±0.43	4.62±0.48	4.84±0.49
p 值	-	.947	<.001	.011	<.001	.008	.285	.073
28 天莖長 (cm)	5.71±0.71	8.59±1.27	8.03±1.29	8.39±1.58	9.18±1.35	7.8±1.36	8.12±1.17	7.79±1.54
p 值	-	<.001	<.001	<.001	<.001	.001	<.001	.001

圖7
番茄莖長分析圖



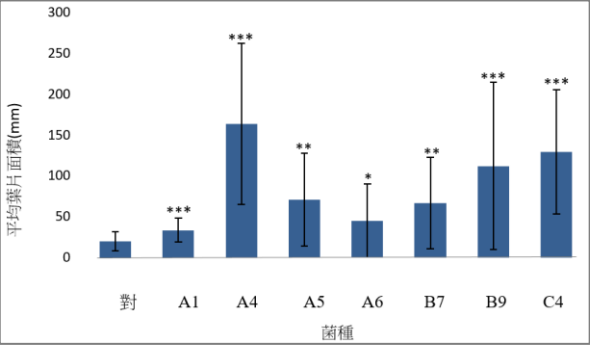
註：1.研究者自製。2.*p<.05，**p<.005，***p<.001。

(二) 草莓

1. 糞菌組發芽時間較早，發芽率略高於對照組。三個月後，可能因為競爭排斥現象，草莓總棵數大多減少，但是除了C4，其餘各組草莓棵數仍大於對照組，其中以A6草莓總數最多（圖9、表7）。

2. 總葉片數量以A4最多，若以所有葉片進行統計，則A4、A5、B7、B9、C4平均葉片面積均顯著大於對照組；若僅統計面積較大的15片葉片，則糞菌組皆顯著大於對照組（變異數不同質，p<.001，以Dunnet T3進行事後比較）（圖8、表7）。

圖 8
草莓平均葉片面積

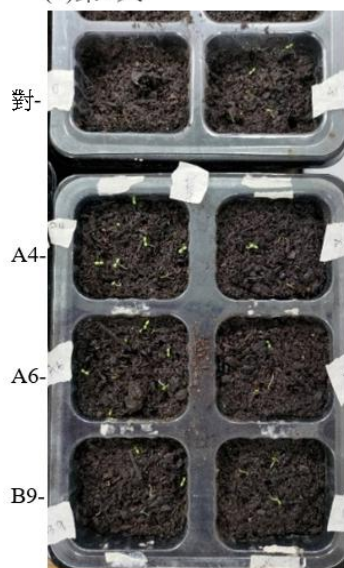


註：1.研究者自製。
2.*p<.05，**p<.005，***p<.001。

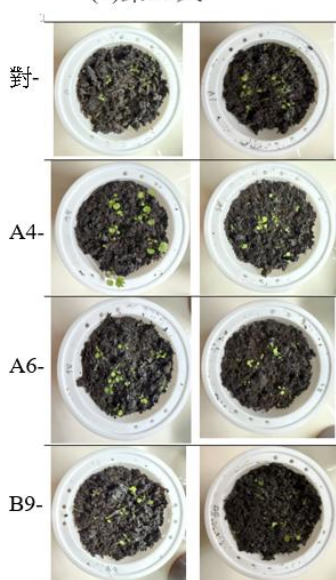
圖9

草莓生長情形

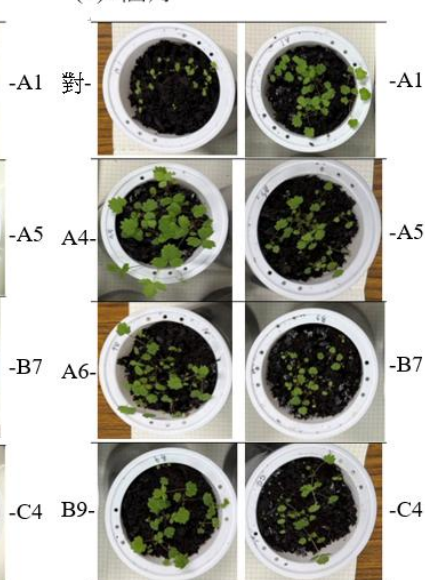
(1)第7天



(2)第28天



(3)3個月



註：研究者自攝

表 7

草莓棵數及平均葉片面積統計表

		對照組	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
棵數	第7天	1	3	6	3	5	2	5	4
	第28天	12	14	13	15	18	14	12	14
	3個月	7	11	13	11	14	8	12	5
平均葉片面積	平均(mm)	19.71	33.42	163.07	70.50	45.09	66.54	111.61	129.10
	標準差	11.74	14.79	98.42	56.94	45.02	56.02	102.23	76.07
	p 值	-	<.001	<.001	.001	.043	.001	<.001	<.001

註：p 值為 Dunnett T3 多重比較結果。

四、糞菌是否會幫助油菜抗逆境

(一) 抗鹽逆境

1.高鹽度環境下，對照組油菜葉片面積較小，植株生長較慢（圖10、圖12）。統計分析後發現變異數不同質（ $p<.001$ ），若仍以ANOVA及LSD多重比較，則每組均具顯著差異，但若採用Dunnett T3多重比較，則僅A5、A6、C4油菜莖長顯著高於對照組（圖11、表8）。

2.我們推測菌株應仍具緩解高鹽環境對油菜造成傷害的能力。

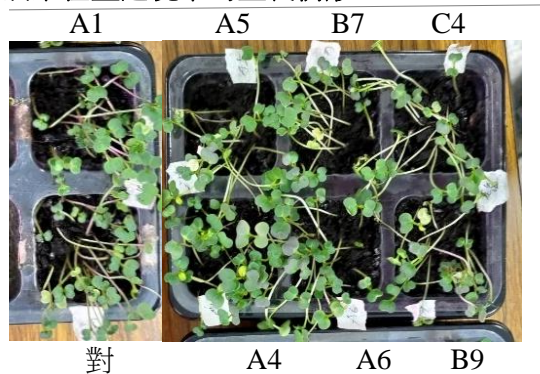
表8

鹽逆境中油菜莖長度的分析

	0	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
平均值	3.03	3.70	3.69	3.79	4.07	3.55	3.54	4.43
標準差	0.40	1.11	0.90	0.54	0.74	0.54	0.56	0.62
p 值	-	.539	.293	.005	.002	.137	.172	<.001

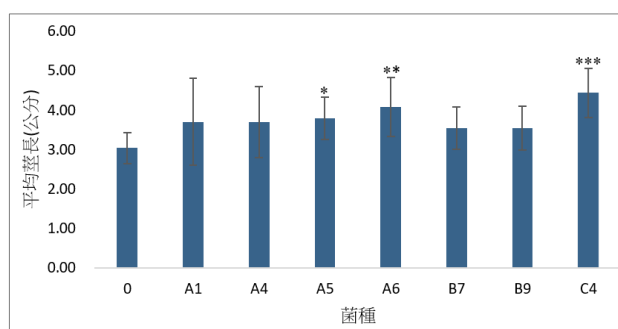
註：莖長單位為公分。p 值為 Dunnett T3 多重比較結果。

圖10
油菜在鹽逆境中的生長情形



註：研究者自攝

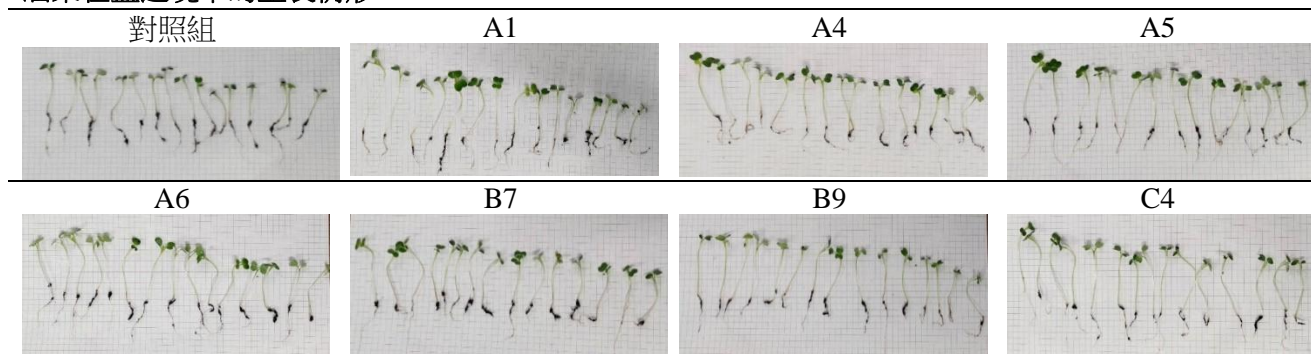
圖11
鹽逆境中油菜莖長度的分析



註：1.研究者自製。

2.* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.001$ 。

圖12
油菜在鹽逆境中的生長情形



註：研究者自攝

(二) 抗高溫逆境

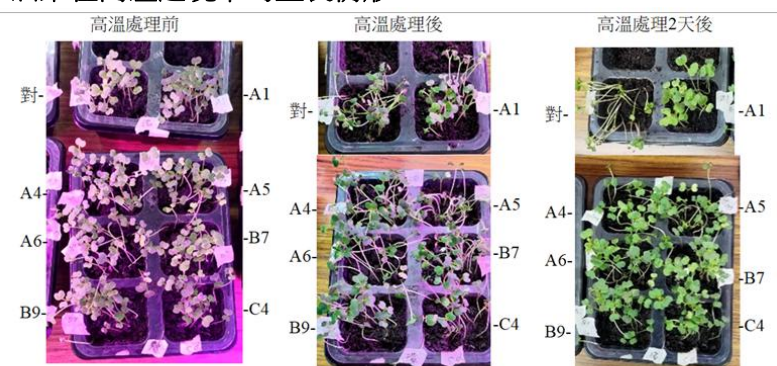
1. 油菜莖長度平均值除了

A5，其餘均大於對照組，但統計上無顯著差異（變異數同質， $p = .089 > .05$ ；ANOVA分析， $p = .484 > .05$ ）（表9、圖15）。

2. 高溫處理後對照組與

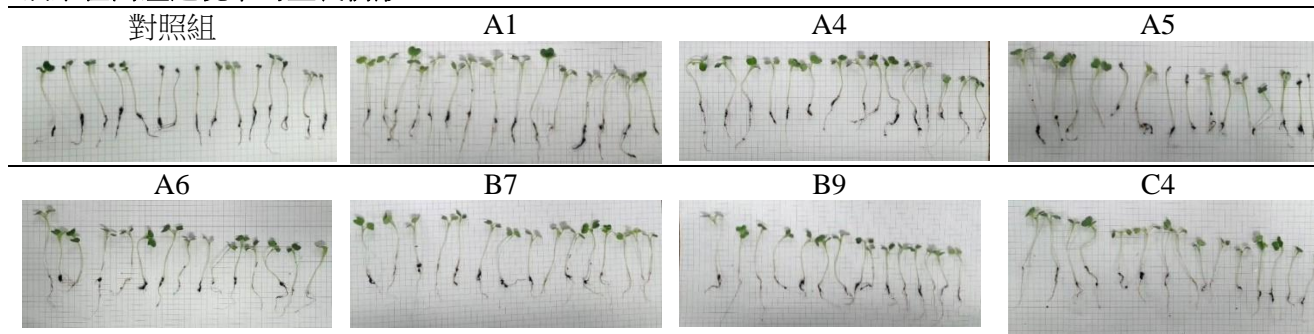
A5倒伏明顯，其次為A4及B7，但在澆水後第2天部分植株恢復直立，但對照組仍有較多植株仍然呈現倒臥狀態，葉片明顯受損，根及莖軟化易斷。因此我們認為短暫熱處理會影響植株生長，但含糞菌組別可減緩熱傷害（圖13、圖14）。

圖 13
油菜在高溫逆境下的生長情形



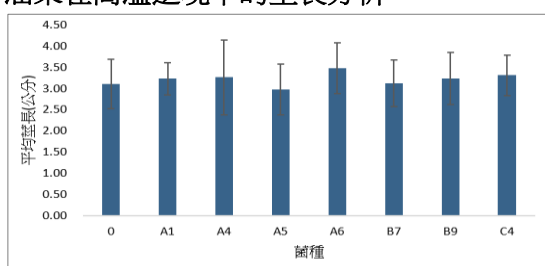
註：研究者自攝

圖14
油菜在高溫逆境下的生長情形



註：研究者自攝

圖15
油菜在高溫逆境下的莖長分析



註：研究者自製。

表9
油菜在高溫逆境下的莖長分析

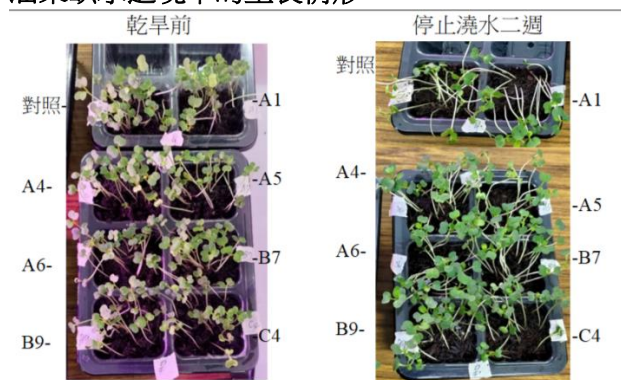
	對	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
平均	3.11	3.23	3.26	2.97	3.47	3.13	3.24	3.31
標準差	0.58	0.38	0.88	0.60	0.60	0.55	0.61	0.48

註：莖長單位為公分。

(三) 抗缺水逆境

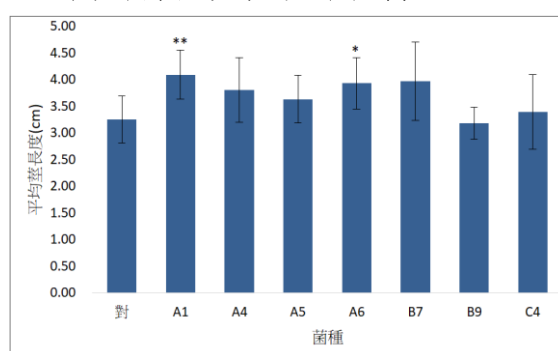
- 1.對照組部分植株呈現乾枯倒伏狀態，葉片較小其他組別植株乾枯狀態不明顯，長出第三片葉子數量較對照組多，葉片面積較大（圖16、圖18）。
- 2.統計分析後發現變異數不同質（ $P=.02<.05$ ），若仍以ANOVA分析，則達顯著（ $p<.001$ ），以LSD進行事後比較則A1、A4、A6、A7具顯著差異；若進行Dunnett T3事後比較則為A1和A6達顯著差異（圖17、表10）。

圖16
油菜缺水逆境中的生長情形



註：研究者自攝

圖17
油菜在缺水逆境中的莖長分析

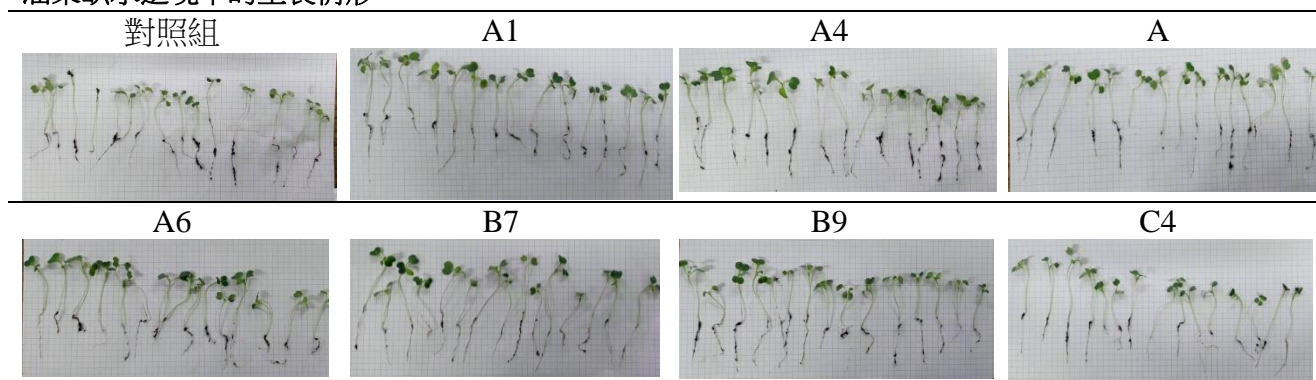


註：1.研究者自製。

2.* $p<.05$ ，** $p<.005$ ，*** $p<.001$ 。

圖18

油菜缺水逆境中的生長情形



註：研究者自攝

表10

油菜在缺水逆境中的莖長分析

	對	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
平均值	3.25	4.09	3.80	3.63	3.93	3.97	3.17	3.39
標準差	0.44	0.46	0.61	0.44	0.48	0.73	0.30	0.70
p 值	-	.001	.184	.460	.010	.082	1.0	1.0

註：1.莖長單位為公分。2.p 值為 Dunnett T3 多重比較結果。

(四) 抗蟲逆境

1.每個花盆裡有許多小馬陸、B7組有一隻蛾

類幼蟲，對照組有2隻紋白蝶幼蟲，除了A1、A5及C4其餘組別均或多或少有被蟲啃咬痕跡（圖20、圖21）。

2.計算15棵油菜總重量，每組均較對照組重，

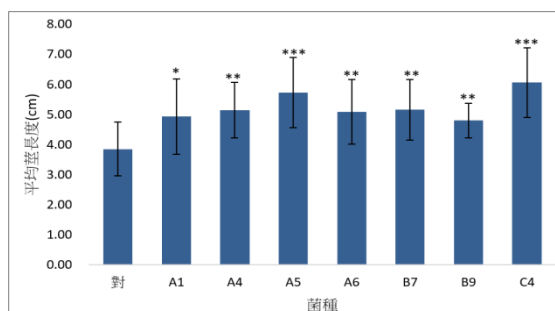
。莖長度亦較對照組高（變異數同質性檢定， $P=.211>0.05$ ；ANOVA分析， $p<0.001$ ）

，因此推測澆灌菌液有助於提高油菜產量（

圖19、表11）。

圖19

油菜在抗蟲逆境中的莖長分析



註：1.研究者自製。

2.* $p<.05$ ，** $p<.005$ ，*** $p<.001$ 。

表11

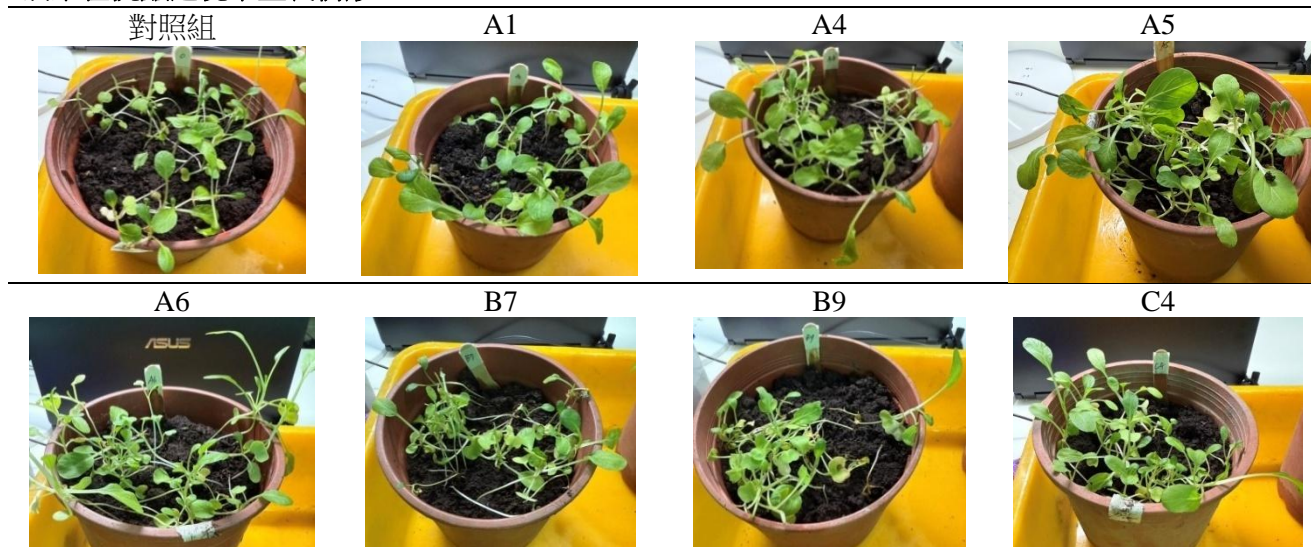
油菜被蟲啃咬情形及總重量與莖長紀錄表

	對照組	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
被蟲啃咬	有	無	有	無	有	有	有	無
總重量(g)	4.59	6.29	6.29	7.05	6.36	5.59	5.39	6.43
莖長度								
平均值(cm)	3.85	4.93	5.15	5.73	5.09	5.15	4.79	6.05
標準差	0.90	1.26	0.92	1.17	1.08	1.01	0.57	1.16
p值	-	.005	.001	<.001	.001	.001	.013	<.001

註：p 值為 LSD 多重比較結果。

圖20

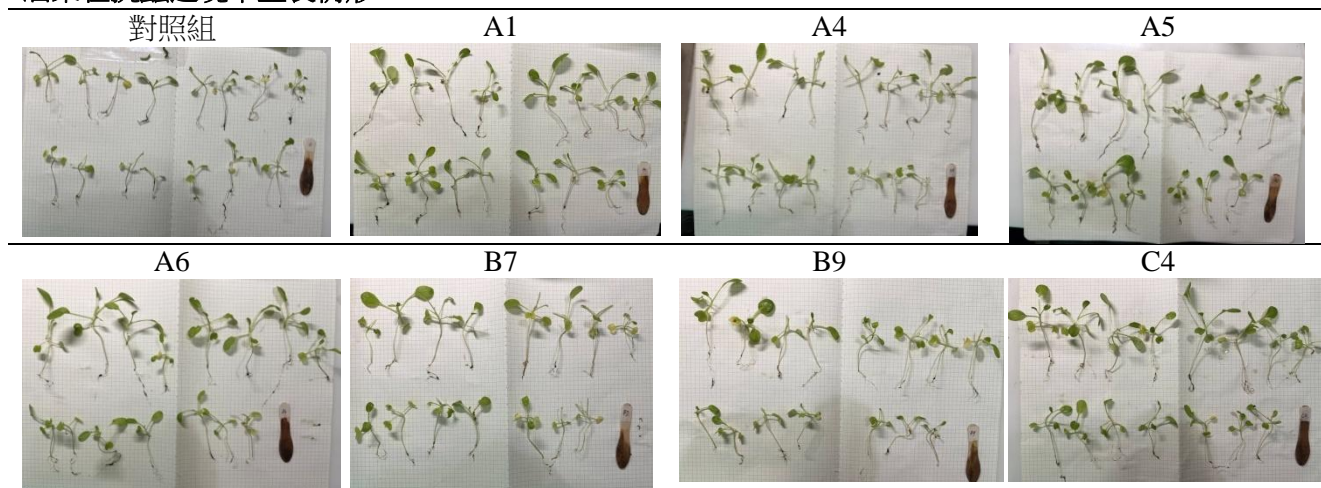
油菜在抗蟲逆境中生長情形



註：研究者自攝

圖21

油菜在抗蟲逆境中生長情形



註：研究者自攝

五、糞菌各種促進植物生長特性分析

(一) 分泌生長素 (IAA)

1. IAA 標準品濃度與 OD_{530} 測量結果如圖 23，輸入 excel 後得到線性函數為 $y=0.0135x+0.0625$ ($R^2=.9926$) (圖 24)。

2. 菌株 IAA 測量及結果如圖 25、表 12 所示。濃度由大到小依序為 $A1>B7>C2>B5>B4>B2>A6>A4>B3>A5>C4>B6>B8$ 。

(二) 固氮：A1、A4、A5、A6、B2、B4、B5、B7、B9 較好，B3、B6、C4 較弱，B8、C2 不固氮 (圖 22 (1))。

(三) 分解纖維素、木質素、果膠能力：A1、A4、A5、A6、B4、B6、B7、B9、C4 具分解纖維素能力 (圖 22 (2))。A1、A4、A5、A6、B3、B4、B6、B7、B8、B9、

B2、C4 具分解果膠能力（圖 22（3））。A1、A4、A5、B2、B4、B6 具分解木質素能力（圖 22（4））。

（四）溶磷：A1 及 C2 有微弱溶磷能力（圖 22（5）、（6））。

（五）分解水楊酸 SA：A1 具有微弱分解 SA 潛力（圖 22（7））。

（六）耐鹽：除了 C2，其餘生長良好（圖 22（8））。

（七）分泌胞外多醣：菌落均偏紅，具有吸附剛果紅能力，推測應具有較佳的產胞外多醣能力（圖 22（9））。

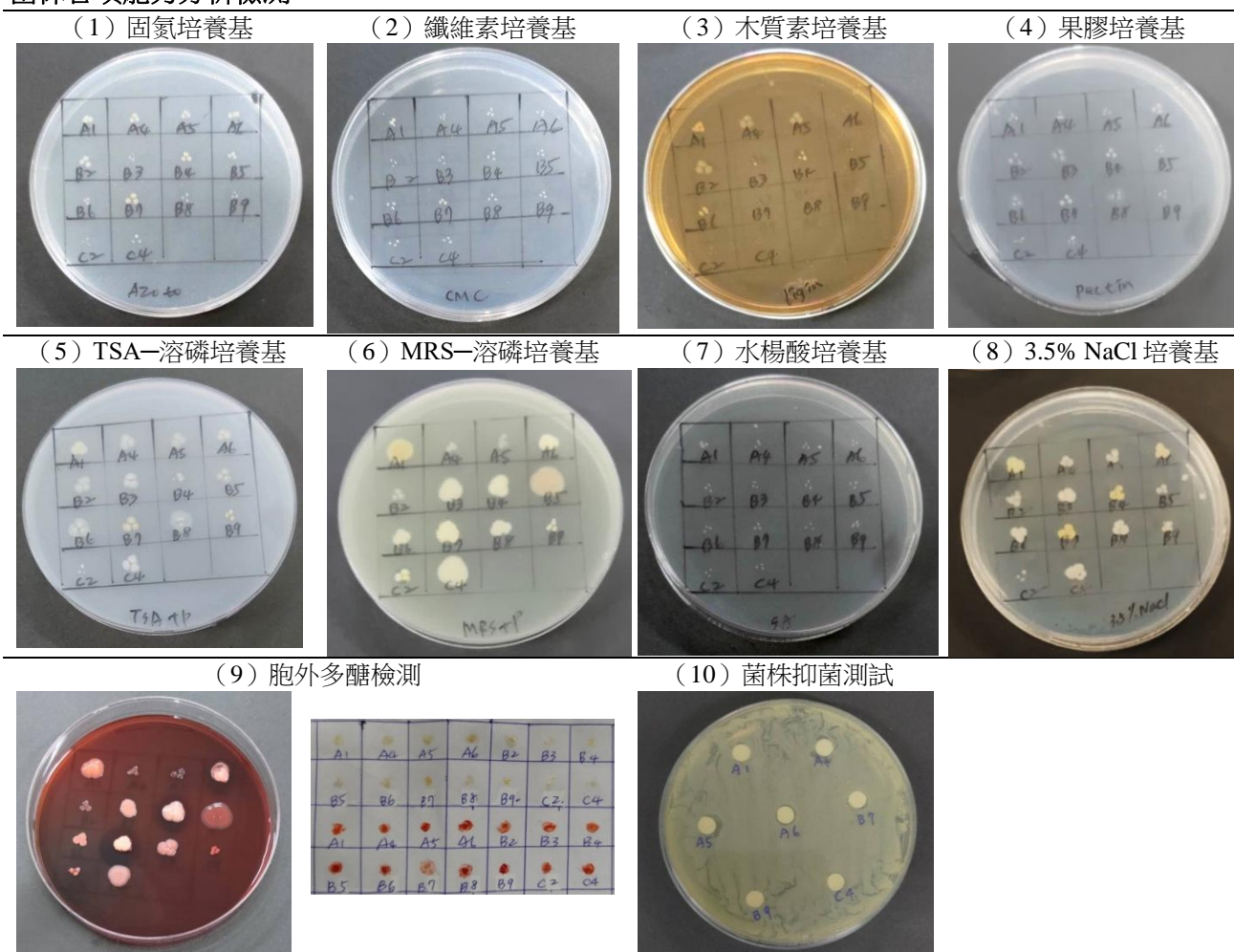
（八）抑制大腸桿菌：A6 有抑菌圈約 9mm，B7、B9 約 8mm（圖 22（10））。

（九）耐高溫：各菌株在 40°C 時仍可生長，45°C 時僅剩 A4、A6、C4 活性較佳，50°C 後菌株幾乎不生長（圖 26、表 13）。

（十）耐酸鹼：菌株可在 pH6~9 環境中生長，其中仍以 pH7 活性最佳（圖 27、表 14）。

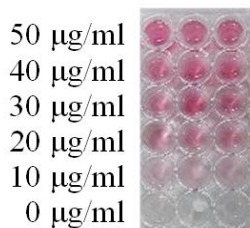
圖 22

菌株各項能力分析檢測



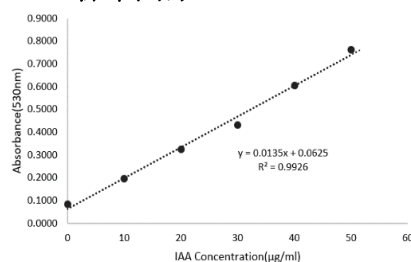
註：研究者自攝

圖 23
IAA 標準品



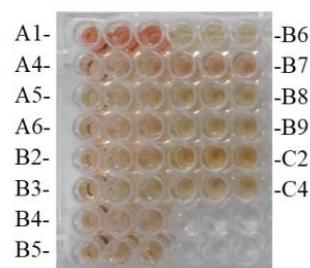
註：研究者自攝

圖 24
IAA 標準曲線



註：研究者自製

圖 25
菌株分泌 IAA 分析

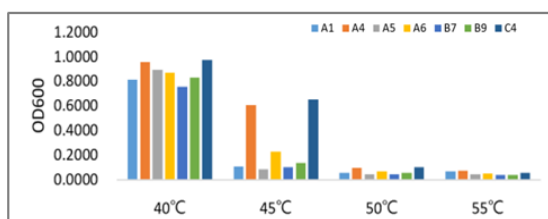


註：研究者自攝

表 12
菌株 IAA 濃度分析

	A1	A4	A5	A6	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	C2	C4
平均 OD ₅₃₀	0.568	0.238	0.218	0.242	0.249	0.224	0.252	0.254	0.198	0.274	0.190	0.189	0.254	0.208
濃度(µ/ml)	37.41	13.00	11.50	13.30	13.84	11.96	14.06	14.17	10.00	15.67	9.47	9.34	14.21	10.81

圖 26
菌株耐高溫測試

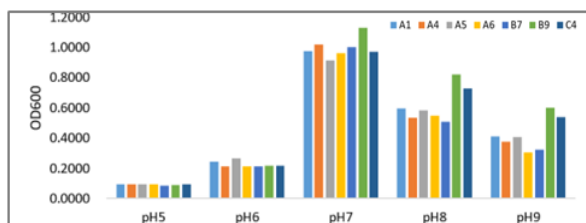


註：研究者自製

表 13
菌株在不同溫度的生長情形（平均 OD₆₀₀）

	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
40°C	0.811	0.957	0.895	0.870	0.757	0.827	0.974
45°C	0.108	0.606	0.082	0.225	0.102	0.138	0.649
50°C	0.054	0.098	0.043	0.068	0.043	0.055	0.100
55°C	0.065	0.074	0.042	0.051	0.037	0.039	0.054

圖 27
菌株耐酸鹼測試



註：研究者自製

表 14
菌株在不同酸鹼值的生長情形（平均 OD₆₀₀）

	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
pH5	0.093	0.094	0.093	0.092	0.083	0.088	0.094
pH6	0.244	0.212	0.266	0.214	0.211	0.216	0.215
pH7	0.975	1.019	0.915	0.963	1.001	1.131	0.969
pH8	0.594	0.532	0.581	0.549	0.508	0.819	0.730
pH9	0.411	0.377	0.408	0.304	0.321	0.601	0.537

六、菌種鑑定與文獻探討

（一）A1 為 *Glutamicibacter* 或 *Arthrobacter*

Glutamicibacter（谷氨酸桿菌屬）或 *Arthrobacter*（節桿菌屬）為放射菌門放射菌綱微球菌目微球菌科，序列比對結果最接近 A1 的是 *Glutamicibacter.sp* ktm-5（99.58%），*G.mysorens* NBN-009（邁索谷氨酸桿菌，99.58%），*G. nicotianas* ZM05（煙草谷氨酸桿菌，99.51%）。文獻指出放線菌群具有細菌和真菌的特徵，在酵素生產方面對藥理學工業的貢獻極大。Karthik 等（2023）曾從印度紅樹林土壤中分離出了 *G.mysorens* MW

647910.1，發現 *G. mysorens* 細胞萃取物對多種病原體有抗菌活性，例如鼠傷寒沙門氏菌、金黃色葡萄球菌、銅綠假單胞菌、普通變形桿菌和蠟樣芽孢桿菌等。此外 *G. mysorens* 蛋白質組成也表現出對癌細胞的抗增殖活性，被發展作為抗癌肽。Hidri 等（2023）的研究則發現 *Glutamicibacter.sp* 可耐鹽至 10%，並透過產生胞外多醣和限制植物鈉吸收來減輕鹽對蘆葦的影響。

（二）A4 為 *Lelliottia*

Lelliottia（萊利奧蒂亞屬）為假單胞菌門變形菌綱腸桿菌目腸桿菌科，序列最接近的是 *L. aquatilis* TM-2A（99.86%），目前 *L. aquatilis* 已被重新分類為 *L. jeotgali*。Hidayat 等（2024）從油棕根際分離出 *L. jeotgali* AJTS83，發現其具有產銨、溶解磷酸鉀矽酸鹽和生產 IAA 的功能，可在高溫、酸性和鹼性 pH 以及高鹽濃度下存活，並能促進植物生長。Chen 等（2022）在含鎘的土壤中種植擬南芥，並噴灑 *L. jeotgali* MR2 後仍可促進植物生長，並可促使擬南芥吸收鎘，藉此修復土壤的鎘污染。Xiao 等（2022）則發現可利用芒草和 *L. jeotgali* MR2 吸附礦區鉛污染。

（三）A5 為 *Pseudoxanthomonas*

Pseudoxanthomonas（假黃色單胞菌屬）為假單胞菌門變形菌綱溶桿菌目溶桿菌科，與 A5 最接近的是 *Pseudoxanthomonas sp.*CHNTR38（99.66%）、*P. suwonensis* AFS17748（98.69%）、*P. daejeonensis* S9-A64R（98.35%）。Peng 等（2024）發現 *Pseudoxanthomonas sp.*JBR18 具有蛋白酶和纖維素酶活性，可產生 IAA、脯氨酸和胞外多醣，對 7.5% 氯化鈉具耐受性，可藉由抗氧化和減少 Na^+ 吸收協助擬南芥幼苗對抗鹽逆境。Talwar 等（2015）則從農藥污染的土壤中分離出 *P. suwonensis* HNM，發現其能降解用於控制害蟲的有機磷農藥丙溴磷，產生四溴二氯苯酚，並利用為生長的碳源。Yang 等（2015）則發現 *Pseudoxanthomonas sp.* RN402 能夠高效降解柴油、原油、正十四烷和正十六烷。

（四）A6、B7 為 *Bacillus* 或 *Priestia*，C4 為 *Bacillus*

和 A6 最接近的是 *B. subtilis* SAN15（枯草桿菌，99.93%）、*P. megaterium* SF4（巨大芽孢桿菌，99.93%）、*P. aryabhattai* NM1（99.93%）。B7 最接近的是 *P. megaterium* Y18-01（100%）、*P. aryabhattai* AFS034081（100%）。和 C4 最接近的是 *B. toyonensis* AFS088998（豐氏芽孢桿菌，100%）、*B. thuringiensis* SJL4.29（蘇雲金芽孢桿菌，100%）、*B. wiedmannii* AFS076171（維德曼芽孢桿菌，100%）。2020 年以前 *P. megaterium* 及 *P. aryabhattai* 被歸類於 *Bacillus*，現已被歸為 *Priestia*。*Bacillus* 或 *Priestia* 均屬於芽孢桿菌門（舊名厚壁菌門）芽孢桿菌綱核衣細菌目芽孢桿菌科。

B. subtilis HSY211 曾被發現存在大豆根際土壤，可抑制尖孢镰刀菌致病基因表達，並減少大豆根腐病發生（Han et al, 2021）。*B. subtilis* FMCH002 則被發現能夠產生生長素，促進番茄生長，能在根際定殖，增加番茄植株的莖和根的鮮重和乾重、根的體積和長度（De O Nunes et al, 2023）。

P. megaterium，體積大，廣泛應用於生物技術，例如維生素 B12、聚羥基丁酸酯（一種石油塑膠替代品）的生產及促進植物生長。*P. megaterium* 可固氮、溶磷、抑菌、分泌 IAA、固氮、提高植物耐旱、抗蟲能力（Biedendieck et al., 2021）。

B. toyonensis COPE52 具分泌 IAA、蛋白酶活性，可形成生物膜，並對抗真菌，能促使番茄植株生長，增加芽和根長度，並產生更高的乾生物量和葉綠素含量，在鹽脅迫下仍可改變膜脂和脂肪酸組成，刺激作物生長（Rojas-Solis et al, 2020）。Tan 等（2024）則發現在含鉻土壤接種 *B. toyonensis* LBA36，可使蘿蔔幼苗的鮮重和株高分別增加 87.87% 和 37.07%，有助於修復鉻污染的環境。

B. thuringiensis 則是眾所周知的有效的生物殺蟲細菌，具保護植物免受病原體感染的功能（Zhou, 2008）。Wu 等（2019）從青藏高原分離出 *B. wiedmannii* NMSL88 等菌株，發現可在 10°C 以下的溫度繁殖，並在 10°C 下可促進冬小麥幼苗生長。

（五）B9 為 *Lysinibacillus* 或 *Bacillus*

Lysinibacillus（賴氨酸芽孢桿菌屬）或 *Bacillus*（芽孢桿菌屬）皆為芽孢桿菌門芽孢桿菌綱核衣細菌目芽孢桿菌科，與 B9 最接近的是 *Bacillus* sp.5M04（99.93%）、*L. halotolerans* ICE333（99.93%）、*L. endophyticus* C9（99.72%）、*L. massiliensis*（99.72%）。Yu 等（2016）從玉米根的內部中分離出 *L. endophyticus* C9，好氧、能運動的桿狀細菌，能夠產生 IAA。Kong 等（2014）從中國山東鹽鹼土壤樣本分離得到 *L. halotolerans* LAM612(T)，會形成內孢子，可在濃度高達 10% 的 NaCl 中生長。*Lysinibacillus* sp.能降解家禽養殖場常用抗生素土黴素，防止家禽糞便及廢水汙染（Sudha et al., 2022）。

伍、討論

一、蚯蚓糞菌是否會促進農作物生長

我們利用 MRS 培養基自印度藍蚯蚓糞土中分離出 A1~A6，非洲液蚯蚓分離出 B1~B9，歐洲紅蚯蚓分離出 C1~C4 等菌株，經油菜生長測試後發現 A1、A4、A5、A6、B7、B9、C4 具有促進油菜生長能力，其中 A1、A4、A5、A6 來自印度藍蚯蚓，B7、B9 來自非洲夜蚯

蚓，C4 來自歐洲紅蚯蚓，因此在本次實驗中發現印度藍蚯蚓可培養出促進油菜生長的微生物種類較其他兩種多。在 Jing 等（2023）研究中曾利用印度藍蚯蚓、歐洲紅蚯蚓及牛糞種植辣椒和玉米，結果發現其堆肥皆可提高農作物產量，但是印度藍蚯蚓在玉米葉片生物量、根長和果實收穫量果粒數均較歐洲紅蚯蚓為多。這與我們的實驗結果具部分相似性，印度藍蚯蚓目前大多被歸類在歸化種，對生態影響或許較小，同時我們也證實了蚯蚓糞肥促進植物生長原因可能不僅只是養分含量較高，糞菌中的微生物也扮演了相當重要的角色。

菌株促進植物生長能力分析如表 15，菌株大多具有分泌 IAA，固氮，分解纖維素、木質素、果膠等能力，在我們研究中也證實菌株確實可促僅種子提早發芽，使油菜和番茄的莖長度增加，草莓葉片面積變大，使植株看起來較為強健等功效。

表 15

菌株能力分析總表

蚯蚓來源	菌株	固氮	分解纖維素	分解木質素	分解果膠	3.5 % 氯化鈉	分泌生長素	溶磷	分解水楊酸	產胞外多醣	抗大腸桿菌	菌株耐高溫	菌株耐酸鹼	油菜生長	番茄生長	草莓生長	菌種鑑定
印度藍	A1	○	Δ	○	Δ	○	○	Δ	Δ	○	x	40	6~9	○	○	○	<i>Glutamicibacter</i> 或 <i>Arthrobacter</i> (G+)
	A4	○	Δ	○	○	○	○	x	x	○	x	45	6~9	○	○	○	<i>Lelliottia</i> (G-)
	A5	○	Δ	○	Δ	○	○	x	x	○	x	40	6~9	○	○	○	<i>Pseudoxanthomonas</i> (G-)
	A6	○	Δ	x	○	○	○	x	x	○	Δ	45	6~9	○	○	○	<i>Bacillus</i> 或 <i>Priestia</i> (G+)
非洲夜	B2	○	x	○	Δ	○	○	x	x	○	-	-	-	x	-	-	-
	B3	Δ	x	x	○	○	○	x	x	○	-	-	-	x	-	-	-
	B4	○	Δ	Δ	○	○	○	x	x	○	-	-	-	x	-	-	-
	B5	○	x	x	x	○	○	x	x	○	-	-	-	x	-	-	-
	B6	Δ	Δ	○	○	○	○	x	x	○	-	-	-	x	-	-	-
	B7	○	Δ	x	○	○	○	x	x	○	Δ	40	6~9	○	○	○	<i>Bacillus</i> 或 <i>Priestia</i> (G+)
	B8	x	x	x	○	○	○	x	x	○	-	-	-	x	-	-	-
	B9	○	Δ	x	○	○	○	x	x	○	Δ	40	6~9	○	○	○	<i>Lysinibacillus</i> 或 <i>Bacillus</i> (G+)
歐洲紅	C2	x	x	x	x	x	○	x	x	○	-	-	-	x	-	-	-
	C4	Δ	Δ	x	Δ	○	○	x	x	○	x	45	6~9	○	○	○	<i>Bacillus</i> (G+)

註：○具有此能力，Δ表現微弱，x 不具此能力，-未檢測

二、蚯蚓糞菌是否會幫助油菜抗逆境

文獻指出（Edwards & Bohlen, 2022）蚯蚓糞肥可透過土壤性質改良、植物根系發展、增加土壤微生物活性和提高植物抗氧化力，提升作物水分利用效率和耐旱性，但文獻中並無明確指出蚓糞中有何種微生物可對抗乾旱環境。在本研究中我們則從蚓糞分離培養出了

Glutamicibacter 或 *Arthrobacter* (A1)、*Lelliottia* (A4)、*Pseudoxanthomonas* (A5)、*Priestia* 或 *Bacillus* (A6、B7、B9、C4)、*Lysinibacillus* (B9) 等微生物。查詢文獻後發現植物根際菌群主要藉由合成植物生長調節因子 (ABA、赤霉素、IAA)、產生 ACC 脫氨酶、增強植物抗氧化酶活性和產生細菌胞外多醣等能力提高宿主植物抗逆境的能力，而我們自蚓糞分離出的菌株亦具有分泌 IAA 及胞外多醣能力。文獻指出，蘇雲金芽孢桿菌（蘇力菌，*Bacillus thuringiensis*）（C4 可能菌種之一）可利用合成 IAA，促進植物根系生長，增加葉片含水量和光合作用速率，提高植物耐旱能力（Armada et al., 2014），且蘇雲金芽孢桿菌目前已是運用農業上防治紋白蝶幼蟲的生物製劑之一，在我們的研究中也發現 C4 組的油菜未被蟲啃咬。A6 可能菌種之一枯草芽孢桿菌（*Bacillus subtilis*）亦可藉由合成 IAA 提高小麥在乾旱逆境下的光合速率，而提高小麥抵禦乾旱能力（Barnawal et al., 2017），此外枯草芽孢桿菌目前也已在農業上運用於促進農作物生長或抵抗病蟲害，在我們研究中也發現 A6 具有可抑制大腸桿菌功能。文獻也指出芽孢桿菌（A6、B7、B9、C4 可能為芽孢桿菌）和假單胞菌（A4 為假單胞菌門）產生的胞外多醣可保護細菌免受乾旱損害，阻擋鈉離子進入植物根部，並促進植物水分和養分吸收（Sandhya et al., 2009）。革蘭氏陽性菌中的放線菌（A1 為放射菌門）和厚壁菌（A6、B7、B9、C4 為厚壁菌）也因細胞壁中肽聚糖較厚具有形成孢子的能力，使其在逆境下具有更強韌性（Breitkreuz et al., 2021）。綜合以上敘述，我們認為本研究分離出來的糞菌應具有提升植株抗逆境潛力。

因此利用微生物種植蔬果可促進農作物生長，使植株更為強健，對逆境抵抗力較好，也具有可排除蚯蚓糞便中的有害物質，在田間施灑經濟方便，減少化肥使用等優點，具有良好應用價值，期待未來能進行更詳盡及深入的探究。

陸、結論

- 一、本研究從三種堆肥蚯蚓（歐洲紅蚯蚓、印度藍蚯蚓、非洲夜蚯蚓）的糞土中分離出 7 株可促進油菜、番茄、草莓生長，及具協助植物抗逆境潛力的微生物。
- 二、菌種鑑定後發現分屬於 *Glutamicibacter* 或 *Arthrobacter*、*Pseudoxanthomonas*、*Lysinibacillus*、*Bacillus* 或 *Priestia*、*Lelliottia* 等屬，菌株大多可分泌生長素、胞外多醣，可固氮，可分解果膠、纖維素、木質素，並可在含 3.5% 氯化鈉的培養基、45°C 左右高溫中繼續生長。我們推測未來菌株將可運用於農業上以減少化肥使用，並減緩氣候變遷對農作物造成的傷害。

柒、參考文獻

- 馮昶鈞 (2021)。施用不同蚓糞堆肥對土壤肥力、土白菜生長與抗氧化能力及斜紋夜蛾生長之影響。[碩士論文，中興大學植物醫學暨安全農業碩士學位學程]。
- 簡紹祐 (2015)。評估蚓糞堆肥之安全性及其對萵苣生長及抗氧化能力之影響。[碩士論文，中興大學土壤環境科學系]。
- 張鈞喆 (2016)。促進植物生長之內生菌對玉米生長之效應。[碩士論文，中興大學土壤環境科學系]。
- 齊倍慶 (2001)。從堆肥中篩選纖維素分解酵素生產菌及其酵素性質研究。[碩士論文，清華大學生命科學系]。
- 賴亦德 (2023)。超詳解蚯蚓堆肥製作與利用。晨星出版社。
- 賴亦德 (2018)。台灣常見蚯蚓、蛭類圖鑑。遠足文化。
- 劉頌恩 (2003)。植物保護用植物荷爾蒙農藥製劑之發展。農政與農情，137 期。
<https://www.moa.gov.tw/ws.php?id=5564>
- 楊秋忠 (1994)。固氮菌的應用及發展。農業試驗所特刊，44，5~14。
<https://scholars.tari.gov.tw/handle/123456789/17179>
- 楊秋忠 (2011)。微生物肥料—溶磷菌的應用及要領。苗栗區農業專訓，53，3~5。
https://www.mdais.gov.tw/files/mdais/web_structure/3379/1017.pdf
- 賴亦德 (2016)。太平二號與牠們的產地（一）~（六）。泛科學。
<https://pansci.asia/archives/108760>
- 周林 (2015)。生長素-2：吲哚乙酸、萘乙酸。科學 online 高瞻自然科學教學資源平台。
<https://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=66003>
- 葉綠舒 (2024)。固氮菌讓植物變得更迷人。老葉報報。
<https://vocus.cc/article/668a0932fd897800018d767d>
- 黃文益 (2013)。植物界的乳酸菌—溶磷菌。農業知識庫。
<https://kmweb.moa.gov.tw/knowledgebase.php?func=0&type=0&id=281004>
- 農業科技決策資訊平台 (2018)。植物生長促進細菌能增加植株耐鹽性。
<https://agritech-foresight.atrri.org.tw/article/contents/1594>
- 農傳媒 (2019)。微生物科技新星—植物內生菌。<https://www.agriharvest.tw/archives/4991>
- 維基百科 (2024)。細胞壁。<https://zh.wikipedia.org>
- Atiweh, G., Parrish, C. C., Banoub, J., & Le, T. T. (2022). Lignin degradation by Microorganisms A review. *Biotechnology progress*, 38(2), e3226. <https://doi.org/10.1002/btpr.3226>
- Atiyeh, R.M., Arancon, N.Q., Edwards, C.A., & Metzger, J.D. (2000). Influence of earthworm- processed pig manure on the growth and yield of greenhouse tomatoes. *Bioresource Technology*, 75(3), 175-180.
- Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Atiyeh, R., Metzger, & J.D. (2004). Effects of vermicomposts produced from food waste on the growth and yields of greenhouse peppers. *Bioresource Technology*, 93(2), 139-144.

- Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Bierman, P., & Welch, C. (2008). The influence of vermicompost applications to strawberry plants: Part 1. Effects on growth and yield. *Bioresource Technology*, 99(15), 311-318.
- Armada, E., Roldan, A., Azcon, R. (2014). Differential activity of autochthonous bacteria in controlling drought stress in native *Lavandula* and *Salvia* plants species under drought conditions in natural arid soil. *Microb. Ecol.* 67(2), 410-420
- Bates, B., Kundzewicz, W., Wu, S. 2020. Climate change and water. *The United Nations World Water Development Report 2020*. pp.1-235 <https://www.unwater.org/publications/un-world-water-development-report-2020>
- Barnawal, D., Bharti, N., Pandey, S. S. (2017). Plant growth promoting rhizobacteria enhance wheat salt and drought stress tolerance by altering endogenous phytohormone levels and TaCTR1/ TaDREB2 expression. *Physiol. Plant.* 161(4), 502-514. 4.
- Bhagat, N., Raghav, M., Dubey, S., & Bedi, N. (2021). Bacterial Exopolysaccharides: Insight into Their Role in Plant Abiotic Stress Tolerance. *Journal of microbiology and biotechnology*, 31(8), 1045–1059. <https://doi.org/10.4014/jmb.2105.05009>
- Biedendieck, R., Knuuti, T., Moore, S. J., & Jahn, D. (2021). The "beauty in the beast"-the multiple uses of *Priestia megaterium* in biotechnology. *Applied microbiology and biotechnology*, 105(14-15), 5719–5737. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11424-6>
- Breitkreuz, C., Herzig L., Buscot, F. (2021). Interactions between soil properties, agricultural management and cultivar type drive structural and functional adaptations of the wheat rhizosphere microbiome to drought. *Environ. Microb.* 23(10), 5866-5882
- Chen, L., Bai, Y., Liu, S., Liu, H., Chen, R., & Xiao, Y. (2022). Effects of plant growth-promoting rhizobacteria *Klebsiella michiganensis* TS8 and *Lelliottia jeotgali* MR2 on the growth and cadmium uptake of *Arabidopsis thaliana* under cadmium stress. *Chinese journal of biotechnology*, 38(5), 1915–1928. <https://doi.org/10.13345/j.cjb.210682>
- De O Nunes, P. S., de Medeiros, F. H. V., de Oliveira, T. S., de Almeida Zago, J. R., & Bettiol, W. (2023). *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* promote tomato growth. *Brazilian journal of microbiology*, 54(1), 397–406. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00874-3>
- Dominguez, J., & Edwards, C.A. (2011). Biology and ecology of earthworm species used for vermicomposting. *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management* (pp. 27-40). CRC Press.
- Edwards, C.A., & Burrows, I. (1988). The potential of earthworm composts as plant growth media. *Earthworms in Waste and Environmental Management* (pp. 21-32). SPB Academic Publishing.
- Edwards, C. A., Bohlen, P. J. (2022). Biology and ecology of earthworms. *Springer Science & Business Media*. (Vol. 3). pp. 426. doi: 10.1007/978-0-387-74943-3
- Gajalakshmi, S., & Abbasi, S.A. (2004). Vermicomposting: a potential tool for reducing waste and producing organic fertilizer. *Bioresource Technology*, 93(2), 179-187.
- Garcia, J., Moravek, M., Fish, T., Thannhauser, T., Fei, Z., Sparks, J. P., Giovannoni, J., & Kao- Kniffin, J.

(2024). Rhizosphere microbiomes derived from vermicompost alter gene expression and regulatory pathways in tomato (*Solanum lycopersicum*, L.). *Scientific reports*, 14(1), 21362.
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-71792-7>

Hidri, R., Metoui-Ben Mahmoud, O., Zorrig, W., Azcon, R., Abdelly, C., & Debez, A. (2023). The halotolerant rizhobacterium *Glutamicibacter* sp. alleviates salt impact on *Phragmites australis* by producing exopolysaccharides and limiting plant sodium uptake. *Plant direct*, 7(10), e535.
<https://doi.org/10.1002/pld3.535>

Ghosh PK & Maiti TK (2016) ° Structure of Extracellular Polysaccharides (EPS) Produced by Rhizobia and their Functions in Legume–Bacteria Symbiosis: — A Review. *Achievements in the Life Sciences* , 10 (2) : 136-143. <https://doi.org/10.1016/j.als.2016.11.003>

Hidayat, F., Pane, R. D. P., Sapalina, F., Listia, E., Winarna, Lubis, M. E. S., Oshiro, M., Sakai, K., & Tashiro, Y. (2024). Novel multifunctional plant growth-promoting bacteria isolated from the oil palm rhizosphere under long-term organic matter application. *Journal of bioscience and bioengineering*, 138(5), 406–414. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2024.07.008>

Han, S., Chen, J., Zhao, Y., Cai, H., & Guo, C. (2021). *Bacillus subtilis* HSY21 can reduce soybean root rot and inhibit the expression of genes related to the pathogenicity of *Fusarium oxysporum*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 178,104916.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104916>

Jing, L., Kakati, L. N., Ao, B., & Kiewhuo, P. (2023). Augmentation of plant biomass productivity using epigeic earthworm *Perionyx excavatus* and *Eisenia fetida* as soil nutrient facilitators. *Scientific reports*, 13(1), 18648. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45288-9>

Karthik, Y., Ishwara Kalyani, M., Krishnappa, S., Devappa, R., Anjali Goud, C., Ramakrishna, K., Wani, M. A., Alkafafy, M., Hussien Abduljabbar, M., Alswat, A. S., Sayed, S. M., & Mushtaq, M. (2023). Antiproliferative activity of antimicrobial peptides and bioactive compounds from the mangrove *Glutamicibacter mysorens*. *Frontiers in microbiology*, 14, 1096826.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1096826>

Kong, D., Wang, Y., Zhao, B., Li, Y., Song, J., Zhai, Y., Zhang, C., Wang, H., Chen, X., Zhao, B., & Ruan, Z. (2014). *Lysinibacillus halotolerans* sp. nov., isolated from saline-alkaline soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(Pt 8), 2593–2598. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.061465-0>

Lebeis, S. L., Paredes, S. H., Lundberg, D. S., Breakfield, N., Gehring, J., McDonald, M., Malfatti, S., Glavina del Rio, T., Jones, C. D., Tringe, S. G., Dangl, & J. L. (2015). PLANT MICROBIOME. Salicylic acid modulates colonization of the root microbiome by specific bacterial taxa. *Science (New York, N.Y.)*, 349(6250), 860–864. <https://doi.org/10.1126/science.aaa8764>

Mosaad Khattab, A. (2022). The Microbial Degradation for Pectin. *IntechOpen*. doi: 10.5772/ intechopen.100247

Peng, Y., Jiang, L., Jeon, D., Cho, D., Kim, Y., Kim, C. Y., Lee, J. H., & Lee, J. (2024).

Pseudoxanthomonas sp. JBR18, a halotolerant endophytic bacterium, improves the salt tolerance

- of Arabidopsis seedlings. *Plant physiology and biochemistry : PPB*, 207, 108415. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108415>
- Rojas-Solis, D., Vences-Guzmán, M. A., Sohlenkamp, C., & Santoyo, G. (2020). *Bacillus toyonensis* COPE52 Modifies Lipid and Fatty Acid Composition, Exhibits Antifungal Activity, and Stimulates Growth of Tomato Plants Under Saline Conditions. *Current microbiology*, 77(10), 2735–2744. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02069-1>
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, 31(4), 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072>
- Sudha, S., Parthasarathi, N., Prabha, D., Velmurugan, P., Sivakumar, S., Anitha, V., Shrestha, A., Chinnathambi, A., Alharb, S. A., & Lakshmanaperumalsamy, P. (2022). Oxytetracycline Degrading Potential of *Lysinibacillus* sp. Strain 3+I Isolated from Poultry Manure. *Evidence- based complementary and alternative medicine : 2022*, 2750009. <https://doi.org/10.1155/2022/2750009>
- Talwar, M. P., & Ninnekar, H. Z. (2015). Biodegradation of pesticide profenofos by the free and immobilized cells of *Pseudoxanthomonas suwonensis* strain HNM. *Journal of basic microbiology*, 55(9), 1094–1103. <https://doi.org/10.1002/jobm.201400978>
- Tan, A., Wang, H., Zhang, H., Zhang, L., Yao, H., & Chen, Z. (2024). Reduction of Cr(VI) by *Bacillus toyonensis* LBA36 and its effect on radish seedlings under Cr(VI) stress. *PeerJ*, 12, e18001. <https://doi.org/10.7717/peerj.18001>
- Wonnapijit, P., Sriboonlert, A., & Surat, W. (2022). Exploration of microbial communities in the guts and casts of *Eudrilus eugeniae*, *Perionyx excavatus*, and *Eisenia fetida*. *Folia microbiologica*, 67(2), 329–337. <https://doi.org/10.1007/s12223-022-00948-7>
- Wu, H., Gu, Q., Xie, Y., Lou, Z., Xue, P., Fang, L., Yu, C., Jia, D., Huang, G., Zhu, B., Schneider, A., Blom, J., Lasch, P., Borriss, R., Gao, X. (2019). Cold-adapted Bacilli isolated from the Qinghai-Tibetan Plateau are able to promote plant growth in extreme environments. *Environmental microbiology*, 21(9), 3505–3526. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14722>
- Xiao, Y., Liu, H., Chen, R., Liu, S., Hao, X., & Fang, J. (2022). Heteroauxin-producing bacteria enhance the plant growth and lead uptake of *Miscanthus floridulus* (Lab.). *International journal of phytoremediation*, 24(11), 1205–1212. <https://doi.org/10.1080/15226514.2021.2024134>
- Yang, D. C., Im, W. T., Kim, M. K., & Lee, S. T. (2005). *Pseudoxanthomonas koreensis* sp. nov. and *Pseudoxanthomonas daejeonensis* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(Pt 2), 787–791. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63210-0>
- Yu, J., Guan, X., Liu, C., Xiang, W., Yu, Z., Liu, X., & Wang, G. (2016). *Lysinibacillus endophyticus* sp. nov., an indole-3-acetic acid producing endophytic bacterium isolated from corn root. *Antonie van Leeuwenhoek*, 109(10), 1337–1344. <https://doi.org/10.1007/s10482-016-0732-3>
- Zhou, Y., Choi, Y. L., Sun, M., & Yu, Z. (2008). Novel roles of *Bacillus thuringiensis* to control plant diseases. *Applied microbiology and biotechnology*, 80(4), 563–572. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1610-3>

【評語】 032913

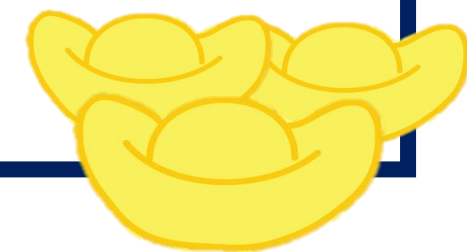
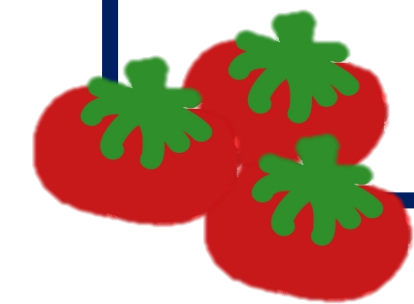
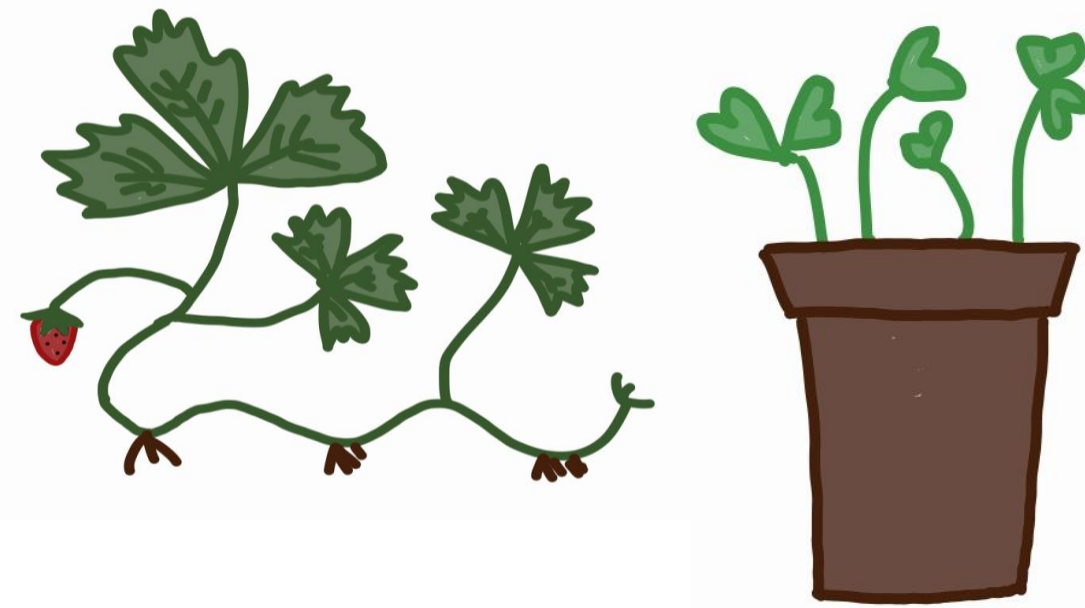
本作品因蚯蚓對土壤肥力的貢獻，推想可能可以從蚓糞中分離出具應用價值的菌種，於是進行篩菌。透過實驗分析糞菌是否會協助作物生長(分析兩種作物)，以及協助油菜抗逆境(分析 4 種性質)，分析 10 種與植物生長有關的特性。參賽學生需進行的實驗量相當多，實驗值以平均值和標準差呈現，是很正確的科學研究態度，可見其對研究的熱情。以下建議供同學參考：

1. 參考文獻實際有用上的才列。
2. 建議同學可以簡述以 Salkowski 試劑量測 IAA 的原理。
3. 固氮能力、分解纖維素、木質素、果膠、水楊酸等探討中，應有更清楚的方法學原理的說明，例如，如何以菌株是否生長判斷其對應的固氮與分解物質能力？
4. 應說明「蕃茄看莖長、草莓看葉大小」作為初步比較生長快慢的方式的合理性。

作品海報

點糞成金——

堆肥蚯蟲糞菌促進農作物生長能力之分析研究



摘要

本研究從三種堆肥蚯蚓（歐洲紅蚯蚓、印度藍蚯蚓、非洲夜蚯蚓）的糞土中分離出7株可促進油菜、番茄、草莓生長，並具有協助農作物抗逆境潛力的微生物。菌種鑑定後發現菌株分屬於*Glutamicibacter*或*Arthrobacter*、*Lelliottia*、*Lysinibacillus*、*Pseudoxanthomonas*、*Bacillus*或*Priestia*等屬。菌株大多具備可分泌生長素、胞外多醣，固氮，分解果膠、纖維素、木質素，可耐鹽，可耐高溫能力，推測菌株不僅可促進農作物生長，並可使植株強健，更能抵抗逆境。我們認為未來將可運用於農業上，減少化肥使用，並減緩氣候變遷對農作物造成的傷害。

壹、研究目的

- 一、分離培養三種堆肥蚯蚓（歐洲紅蚯蚓、印度藍蚯蚓、非洲夜蚯蚓）糞菌，並觀察糞菌是否會促進油菜生長。
- 二、糞菌是否會協助其他作物生長（番茄、草莓）
- 三、糞菌是否會幫助油菜抗逆境（高鹽、高溫、缺水、蟲害）。
- 四、分析糞菌各種促進植物生長特性（分泌生長素、固氮、分解纖維素、木質素、果膠、溶磷、分泌胞外多醣、分解水楊酸、耐鹽、耐高溫、耐酸鹼、抑制大腸桿菌）。
- 五、菌種鑑定

貳、研究方法

一、蚯蚓糞菌的分離

→製作MRS培養基及TSA培養基→分區畫線法

二、糞菌是否會促進油菜生長。

→養菌，調OD₆₀₀→種子接菌，種植→測莖長

三、糞菌是否會協助其他作物生長

- （一）番茄
→養菌→種子處理→測量莖長
- （二）草 莓
→養菌→種子處理→測量葉片面積

四、糞菌是否會幫助油菜抗逆境

（一）抗鹽逆境

日數	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
處理方式	每隔2天澆過濾水5 ml，第7天每組保留莖長2~3公分植株各15~20棵								每2天澆灌一次菌水1 ml、3.5%鹽水5 ml						

（二）抗高溫逆境

日數	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
處理方式	每隔2天澆過濾水5ml，第7天每組保留莖長2~3公分植株各15~20棵								每天澆灌菌水1ml、過濾水5ml		停止澆灌		45°C，60min，過濾水10ml		停止澆灌		觀測

（三）抗缺水逆境

日數	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11~25			26
處理方式	每隔2天澆過濾水5 ml，第7天每組保留莖長2~3公分植株各15棵。								每天澆灌菌水1 ml及過濾水5 ml			停止澆灌			觀測	

（四）抗蟲逆境

日數	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
處理方式	每隔2天澆過濾水5 ml，第7天時挑選莖長2~3公分植株每組各15~20棵。								每天澆灌菌水1 ml、過濾水5 ml			移至室外草地種植。每週澆灌菌水3 ml、過濾水30 ml。							

三、糞菌各種促進植物生長能力分析

- （一）生長素:Salkowski’s reagent，避光30 min，測OD₅₃₀
- （二）固氮: Azotobacter medium
- （三）分解纖維素:CMC medium
- （四）分解木質素:pectin medium
- （五）分解果膠:lignin medium
- （六）溶磷:Ca₃（PO₄）₂ medium

- （七）分泌胞外多醣:congo red medium
- （八）分解水楊酸:SA medium
- （九）耐鹽:3.5% NaCl medium
- （十）耐高溫: 40°C、45°C、50°C、55°C，液態培養2天，測OD₆₀₀
- （十一）耐酸鹼: pH5、6、7、8、9，液態培養2天，測OD₆₀₀
- （十二）抑制大腸桿菌:紙錠擴散法

六、菌種鑑定。

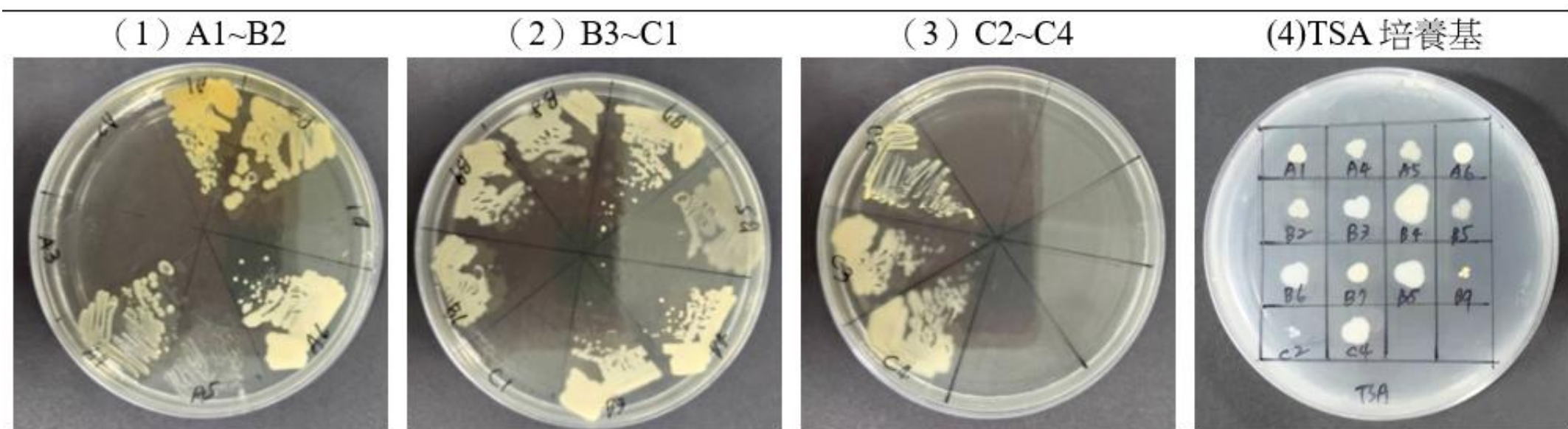
將純化過的菌盤寄送至生技公司鑑定。

叁、研究結果

一、蚯蚓糞菌的分離與純化

- （一）MRS：我們自印度藍蚯蚓分離出A1~A6，非洲夜蚯蚓分離出B1~B9，歐洲紅蚯蚓分離出C1~C4。
- （二）TSA：A1、A4、A5、B2、B3、B4、B5、B6、B7、B8、C4生長情形較為良好，C2生長較差。

圖1
蚯蚓糞菌純化情形(1~3)及菌落在TSA生長情形(4)

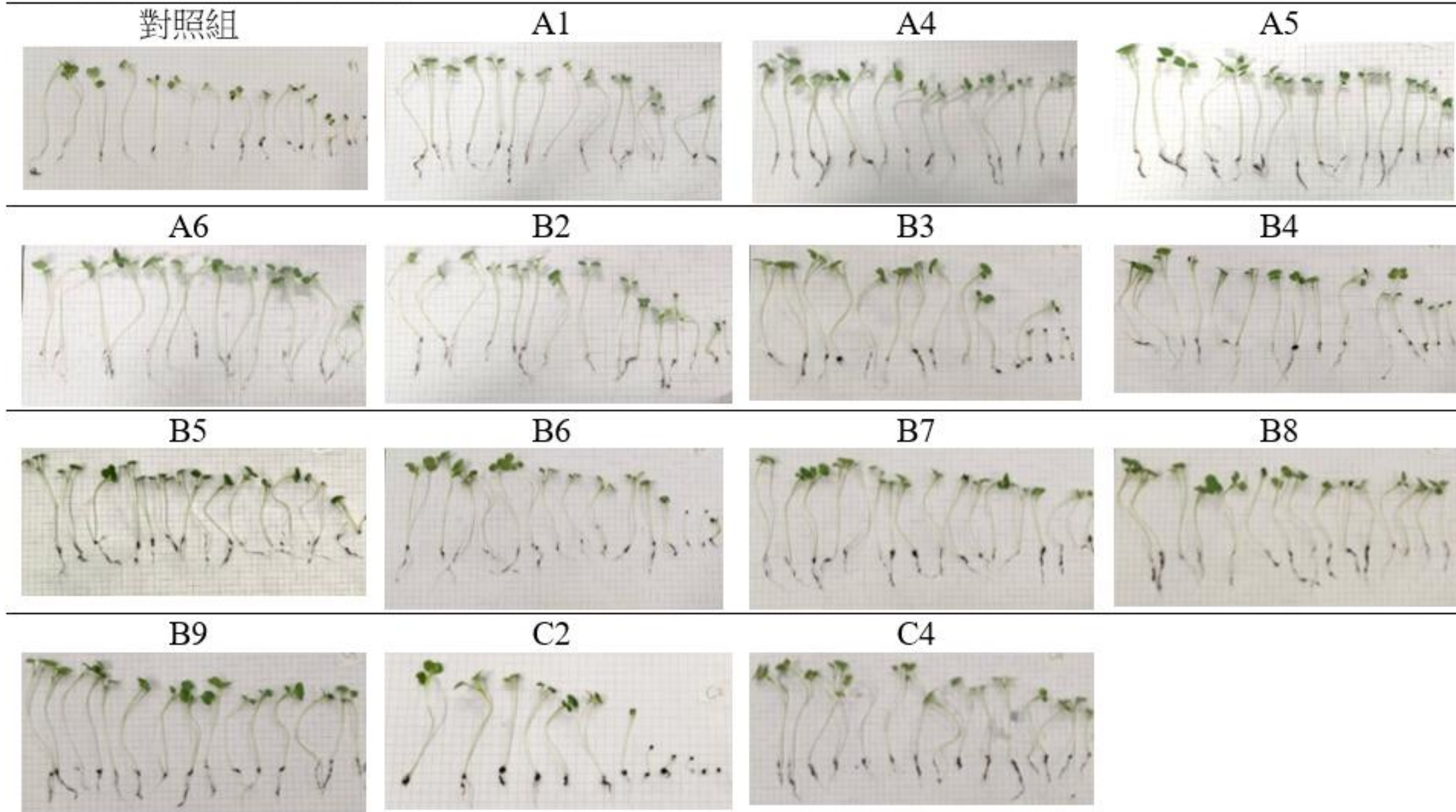


註:研究者自攝

二、糞菌是否會促進油菜生長

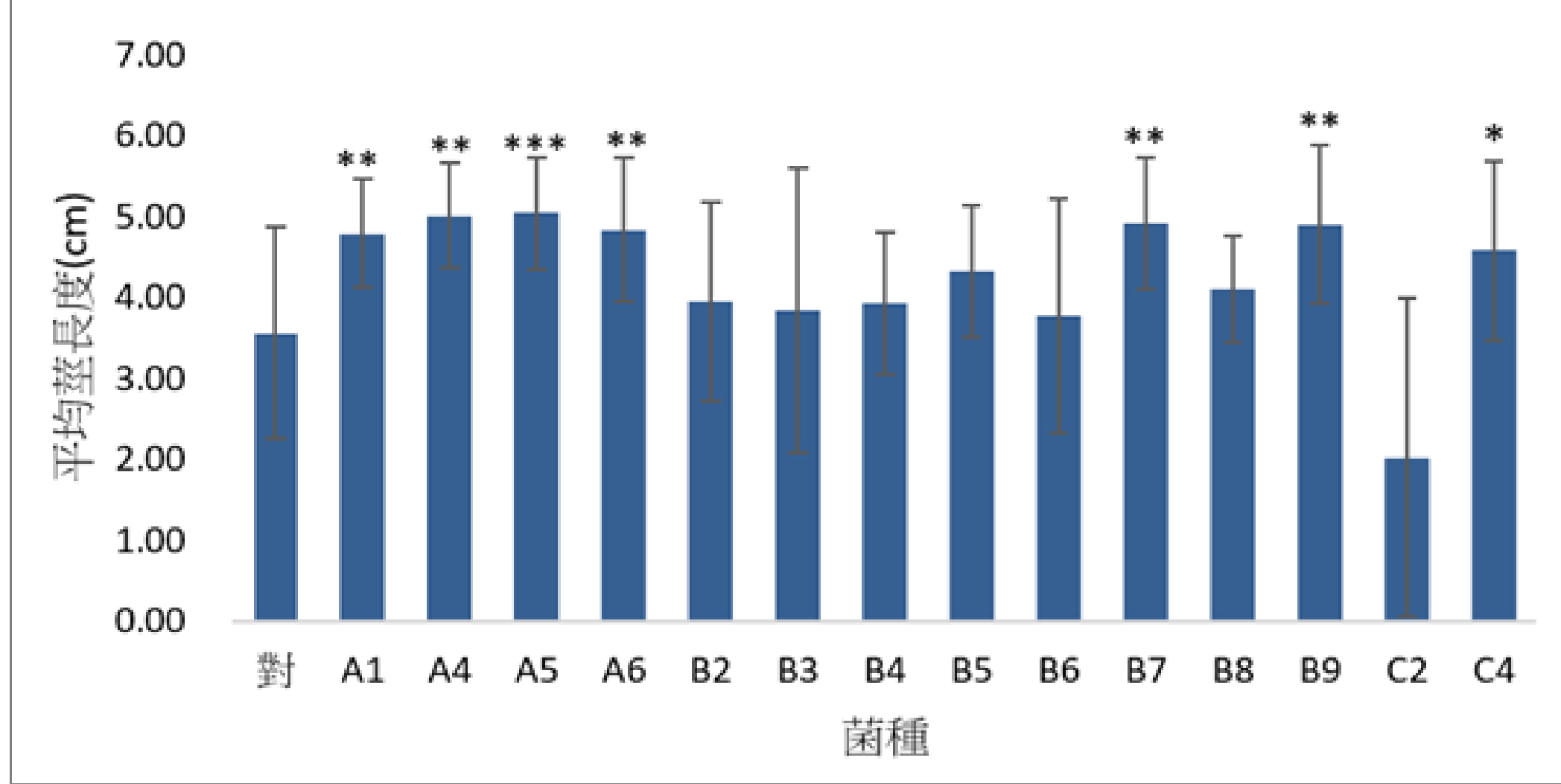
A1、A4、A5、A6、B7、B9、C4的莖長度顯著大於對照組，C2顯著小於對照組。

圖2
澆灌菌液後油菜的生長情形



註：1.研究者自攝。2.方格紙中每一小格為0.5 cm。

圖3
澆灌菌液後油菜的莖長度分析



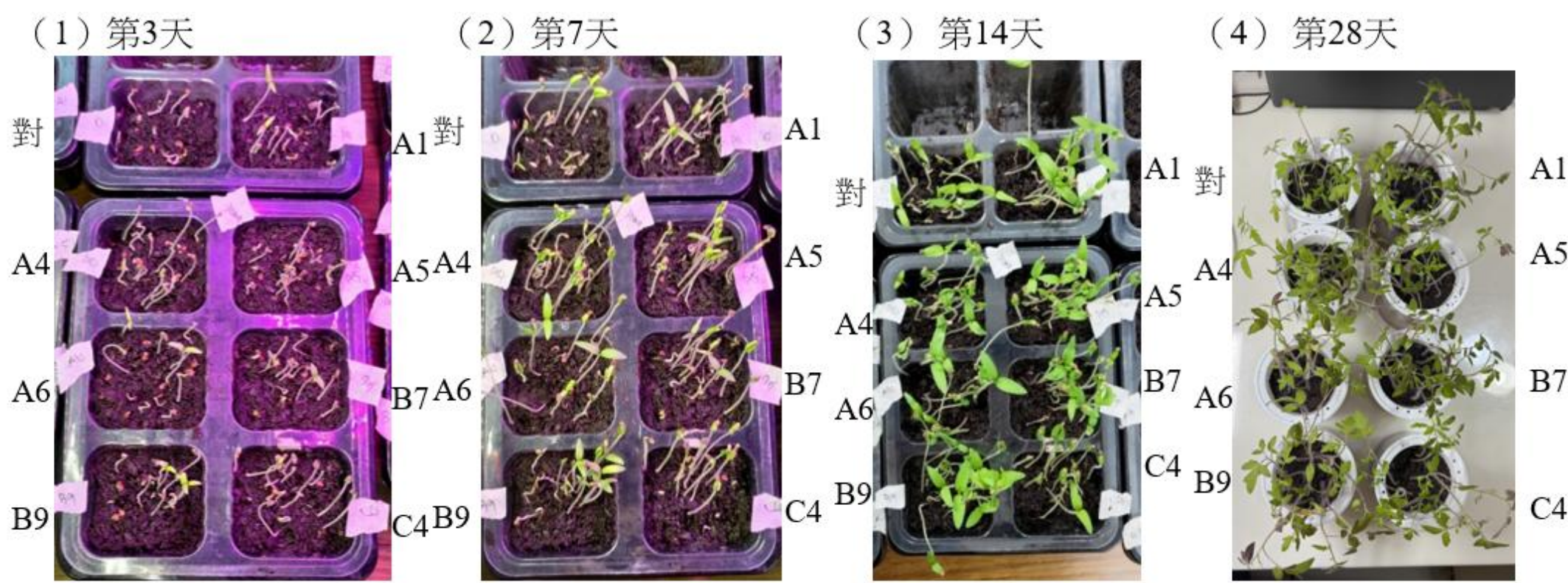
註：1.研究者自製。2.*p<.05，**p<.005，***p<.001。

三、糞菌是否會協助其他作物生長

（一）番茄

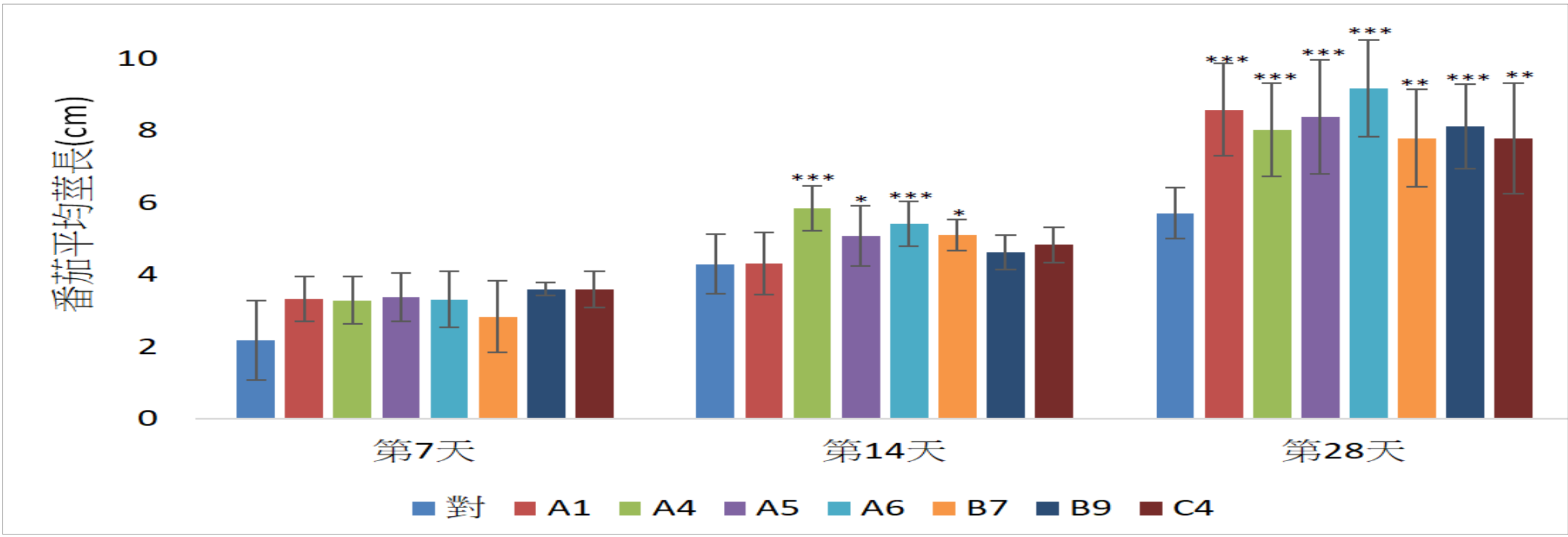
第7天時糞菌組發芽率高於對照組。第28天時糞菌組莖長度皆顯著高於對照組。

圖4
番茄生長情形



註:研究者自攝

圖5
蕃茄莖長度分析

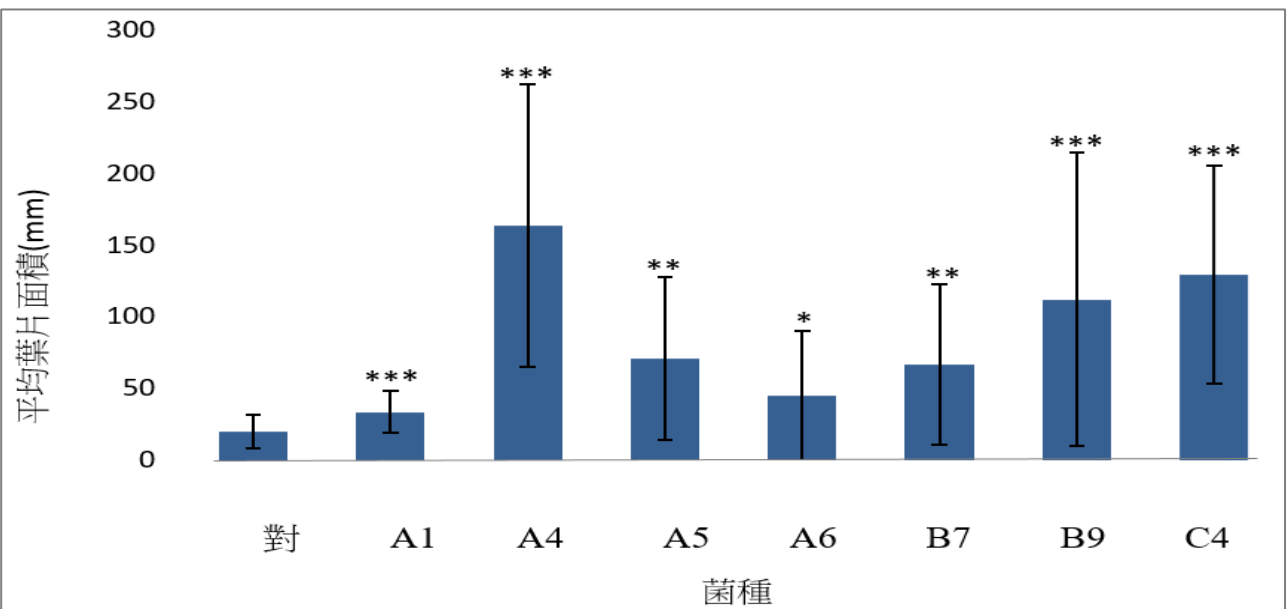


註:研究者自製

(二) 草莓

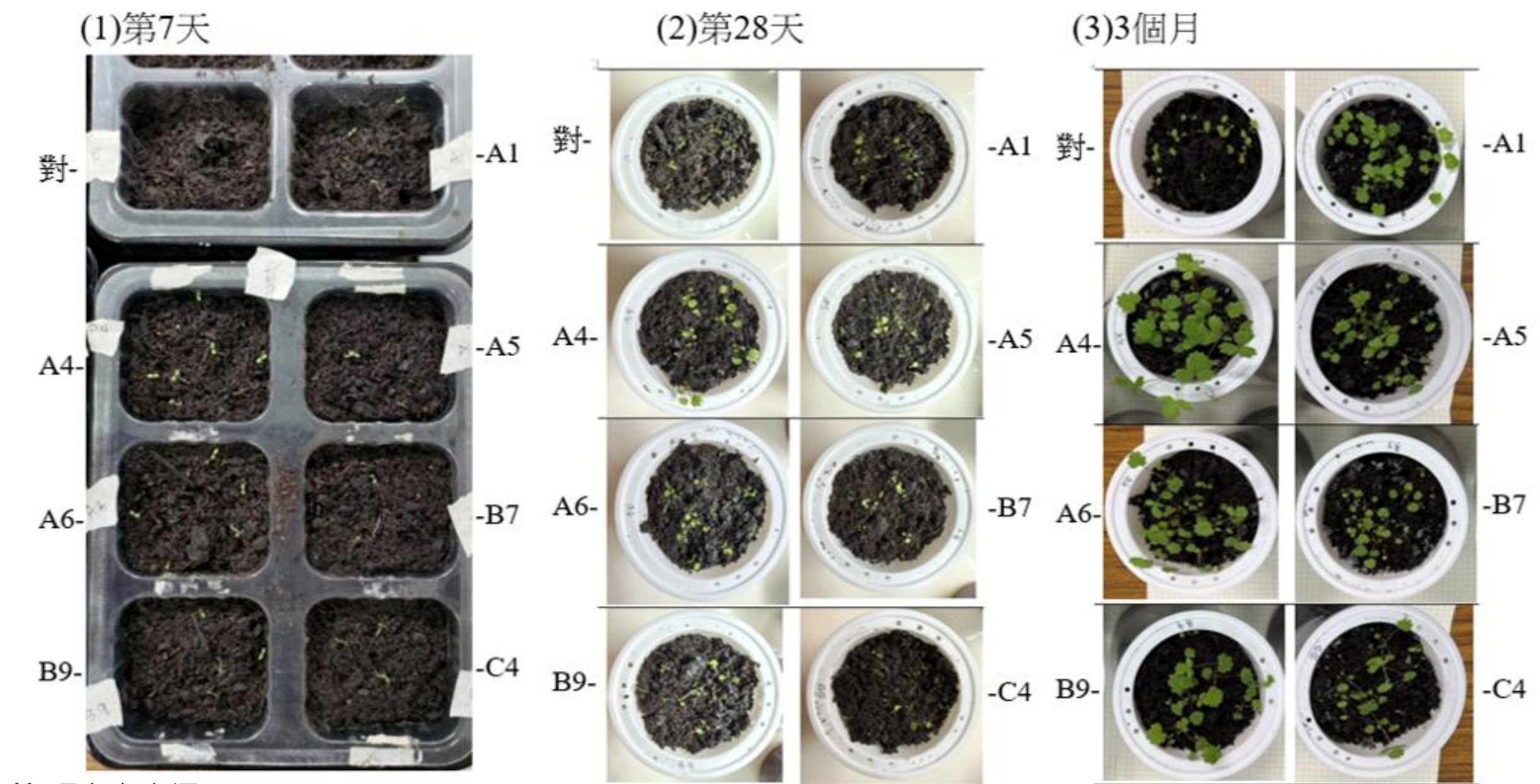
糞菌組發芽時間較早，發芽率略高於對照組。3個月後糞菌組平均葉片面積皆顯著大於對照組。

圖6
草莓平均葉片面積分析(3個月)



註：1.研究者自製。2.*p<.05。 **p<.005。 ***p<.001。

圖7
草莓生長情形



註:研究者自攝

表1
草莓株數統計表

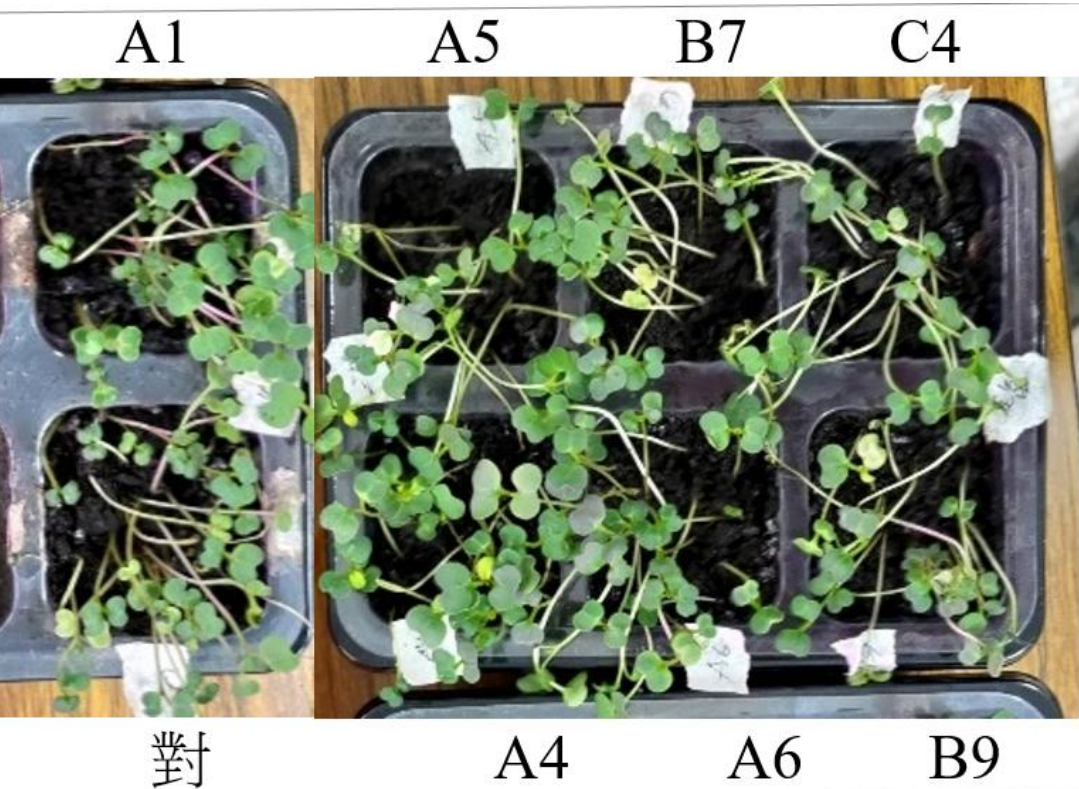
		對照組	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
株數	第7天	1	3	6	3	5	2	5	4
	第28天	12	14	13	15	18	14	12	14
	3個月	7	11	13	11	14	8	12	5

四、糞菌是否會協助油菜抗逆境

(一) 抗鹽逆境

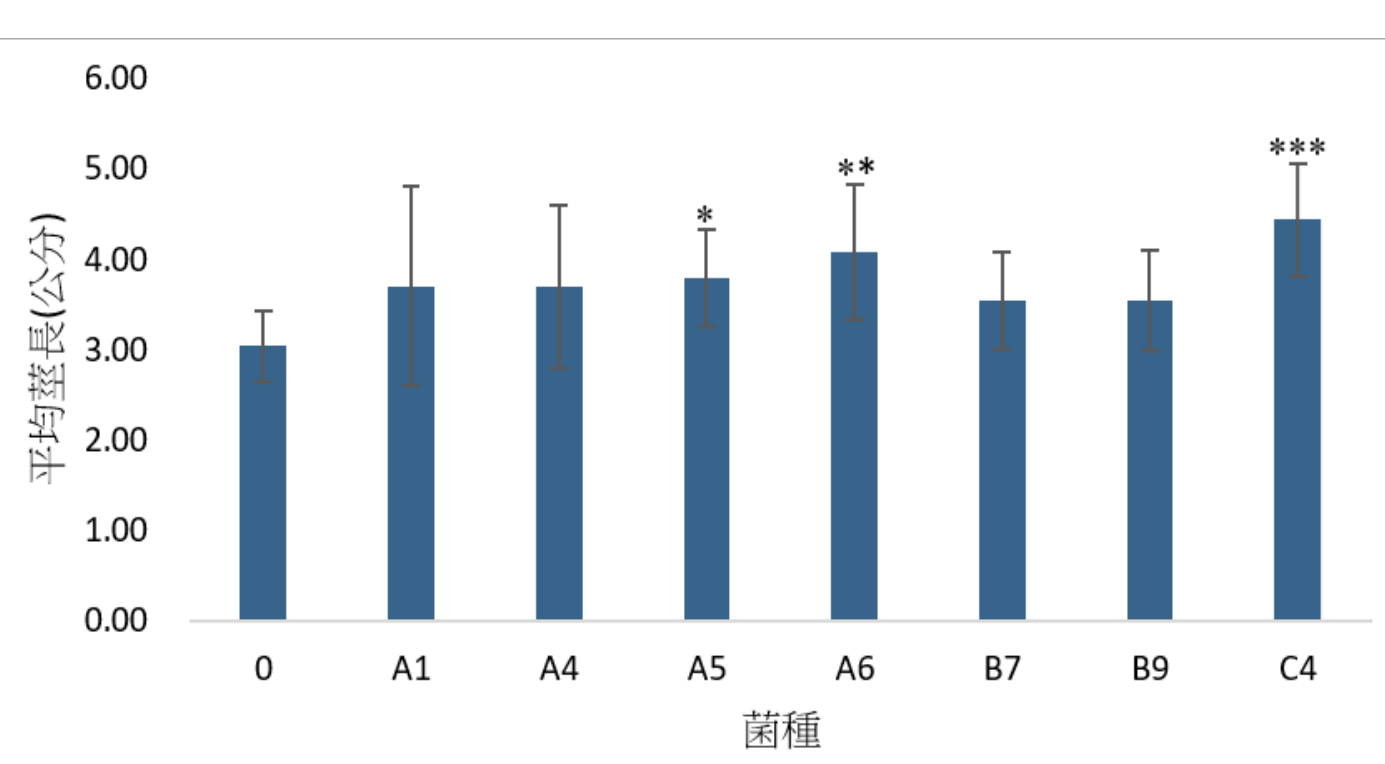
鹽逆境中油菜葉片面積較小，植株生長較為緩慢，但A5、A6、C4仍可協助油菜生長，推測菌株可協助油菜抗鹽逆境。

圖8
油菜在鹽逆境中的生長情形



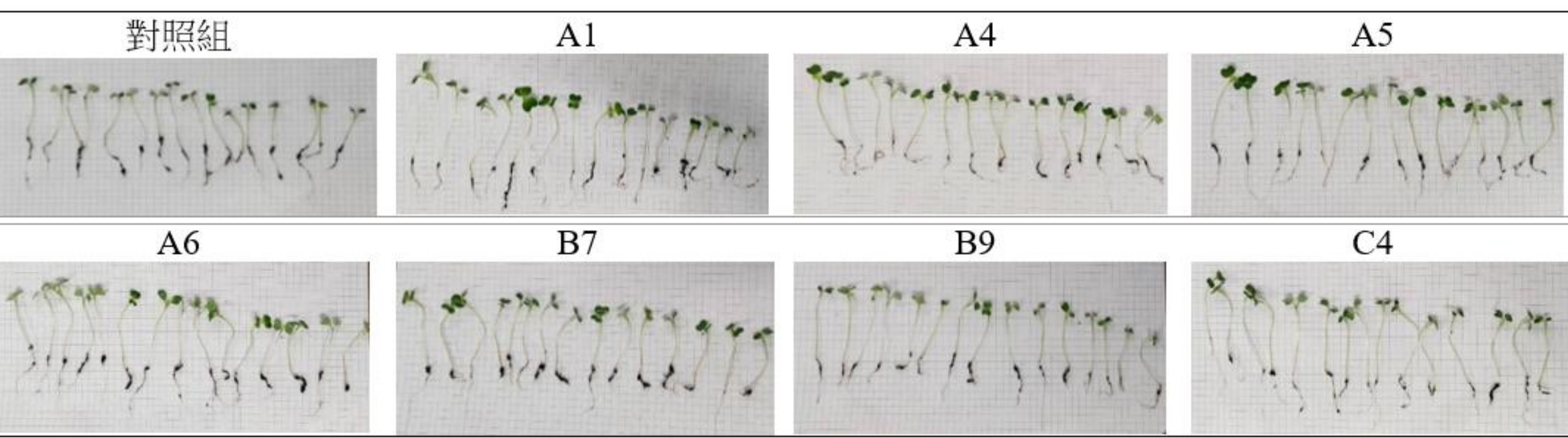
註:研究者自攝

圖9
油菜在鹽逆境生長的莖長度分析



註：1.研究者自製。2.*p<.05。 **p<.005。 ***p<.001。

圖10
油菜在鹽逆境中的生長情形

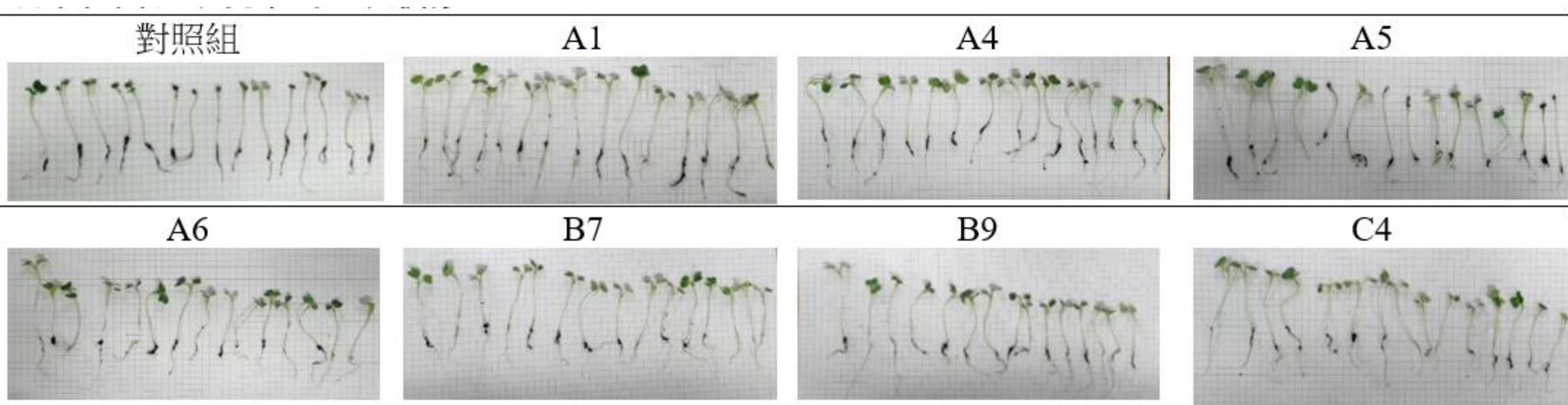


註:研究者自攝

(二) 抗高溫逆境

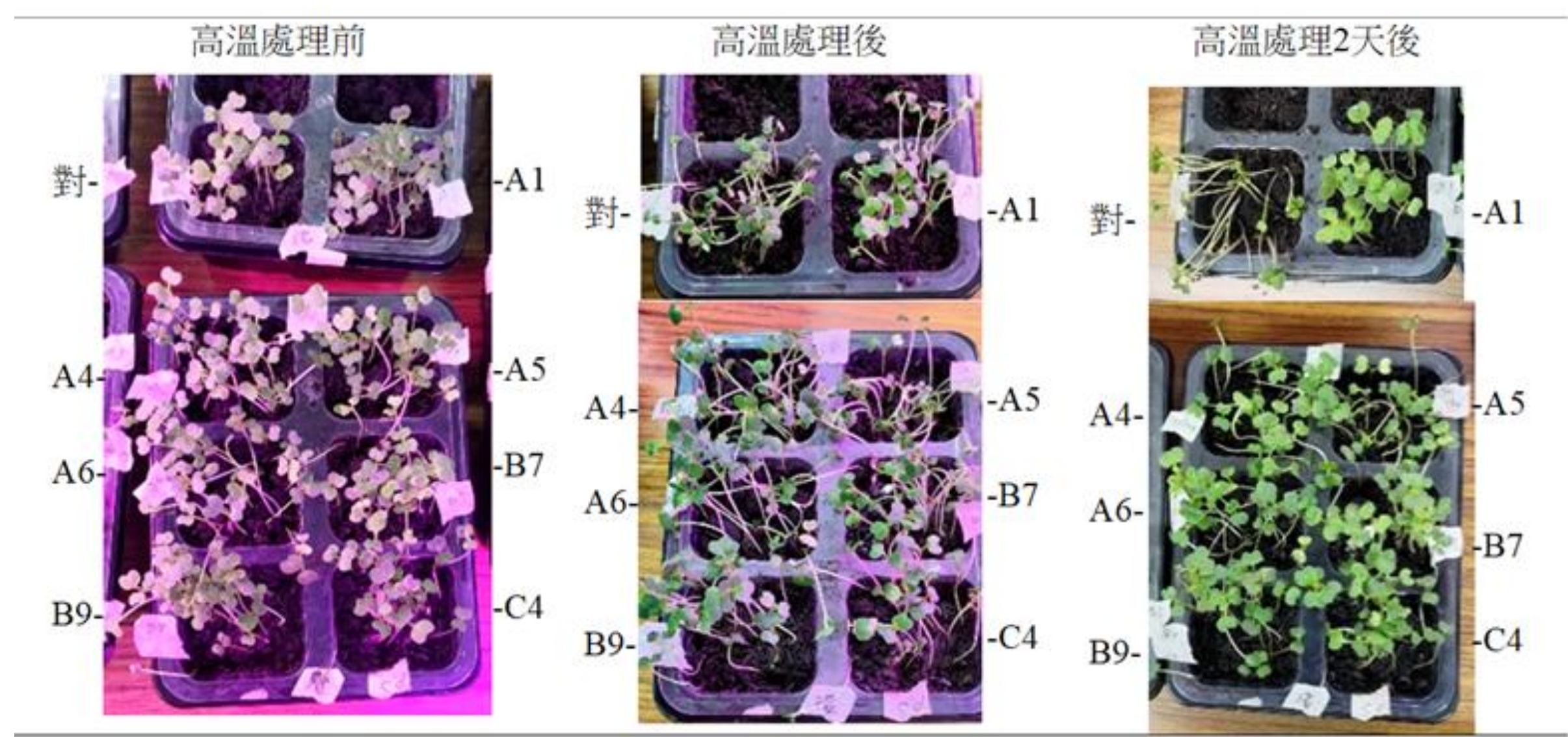
對照組與A5倒伏明顯，在澆水後第2天部分植株恢復直立，但對照組仍有大多呈現倒臥狀態，葉片受損明顯，根及莖軟化易斷。因此我們推論糞菌組別可減緩熱傷害。

圖12
油菜在高溫逆境中的生長情形



註:研究者自攝

圖13
油菜在高溫逆境中的生長情形

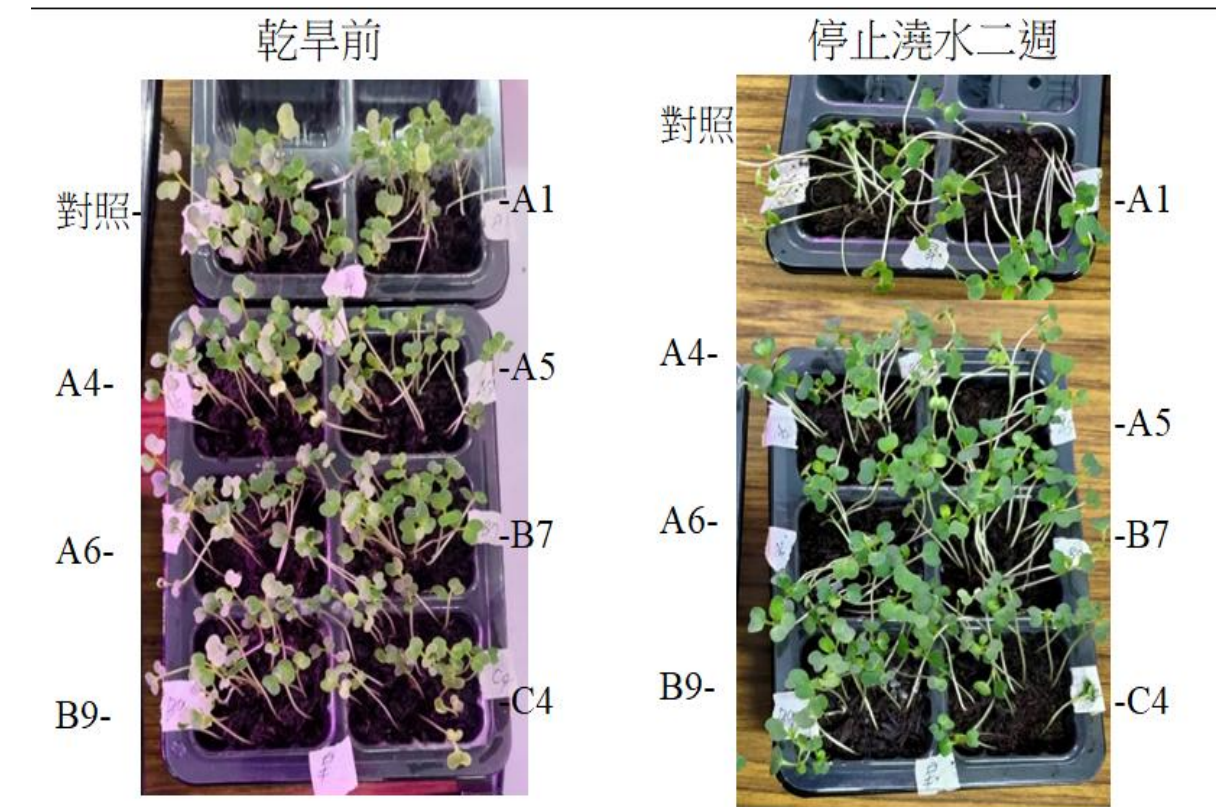


註:研究者自攝

(三) 抗缺水逆境

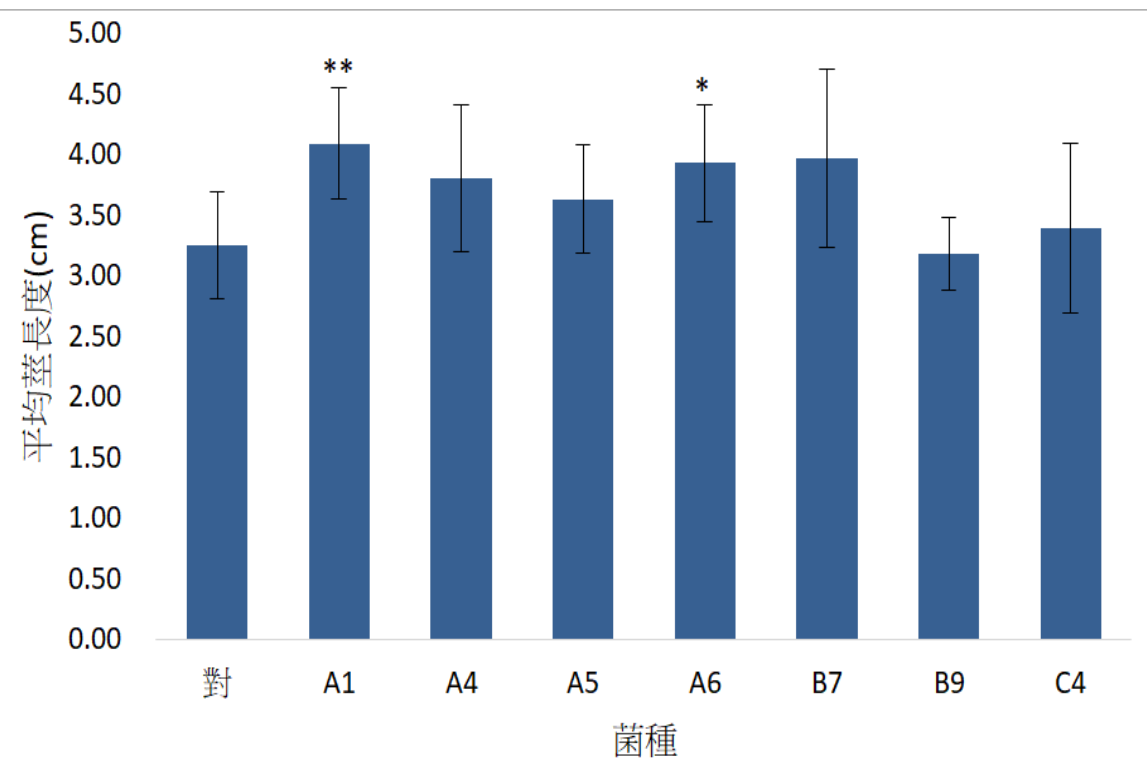
對照組部分植株呈現乾枯倒伏狀態，其他組別植株乾枯狀態不明顯，長出第三片葉子數量較對照組多，葉片面積較大。A1和A6莖長度顯著大於對照組。

圖14
油菜在缺水逆境中的生長情形



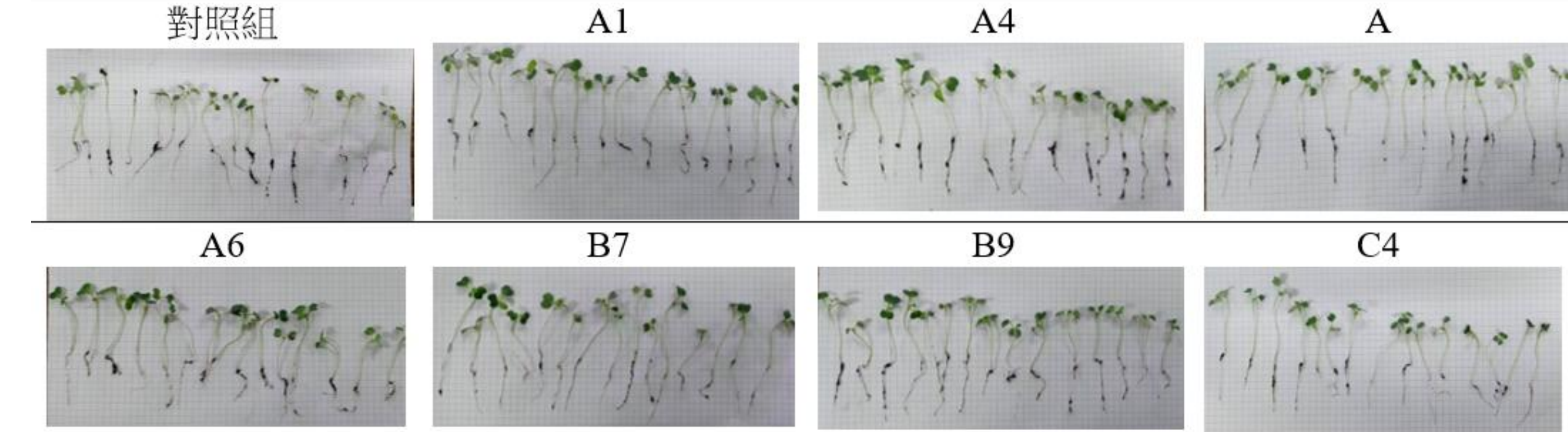
註:研究者自攝

圖15
油菜在缺水逆境中生長的莖長度分析



註：1.研究者自製。2.*p<.05。 **p<.005。

圖16
油菜在缺水逆境中的生長情形

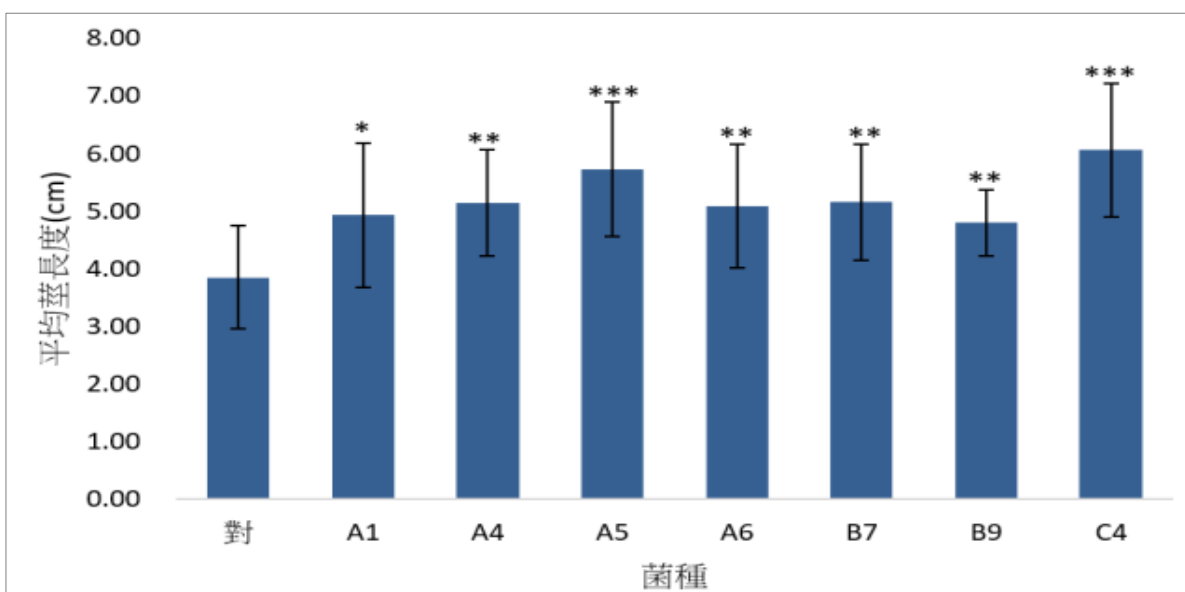


註:研究者自攝

(四) 抗蟲逆境

除了A1、A5及C4其餘組別均或多或少有被蟲啃咬痕跡。每組重量及莖長度均大於對照組。

圖17
油菜在蟲逆境中生長的莖長度分析

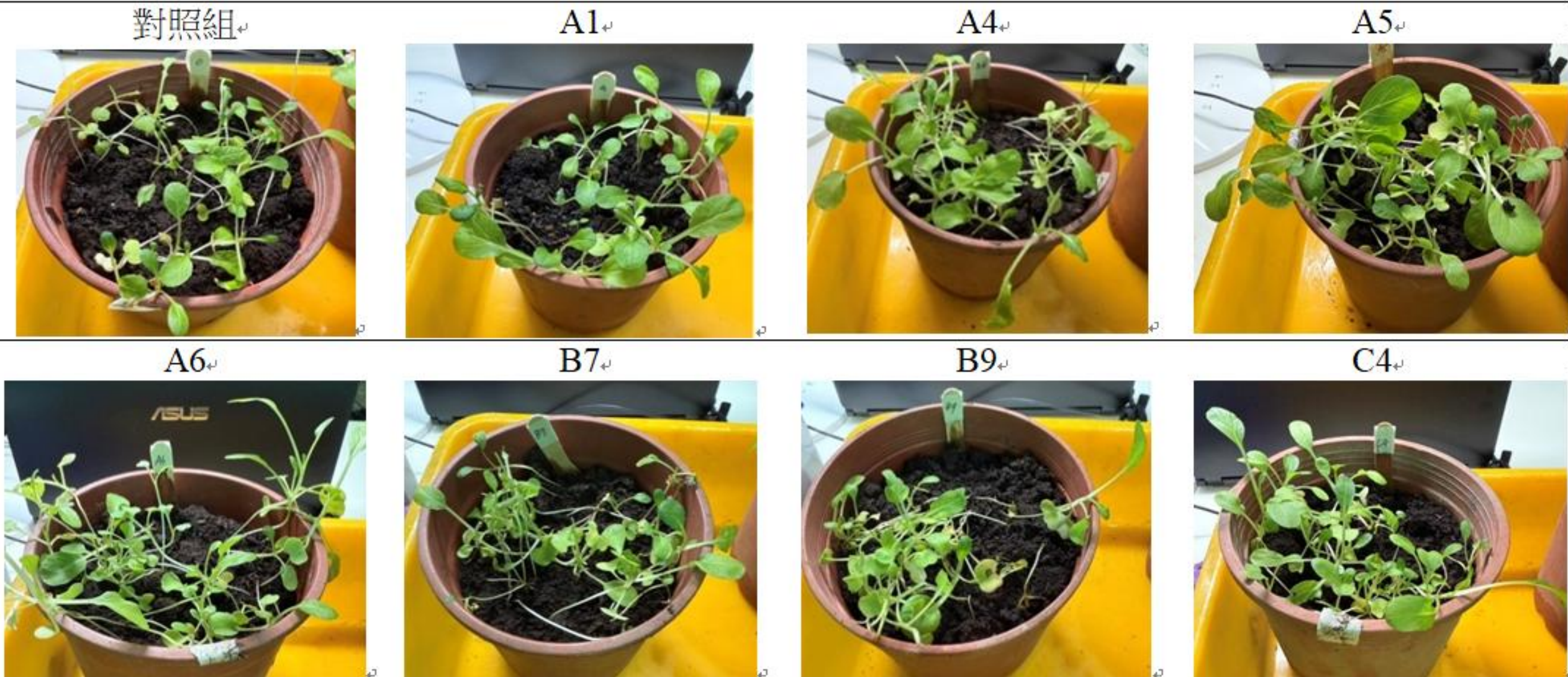


註：1.研究者自製。2.*p<.05。 **p<.005。 ***p<.001。

表2
油菜被蟲啃咬情形與總重量紀錄表

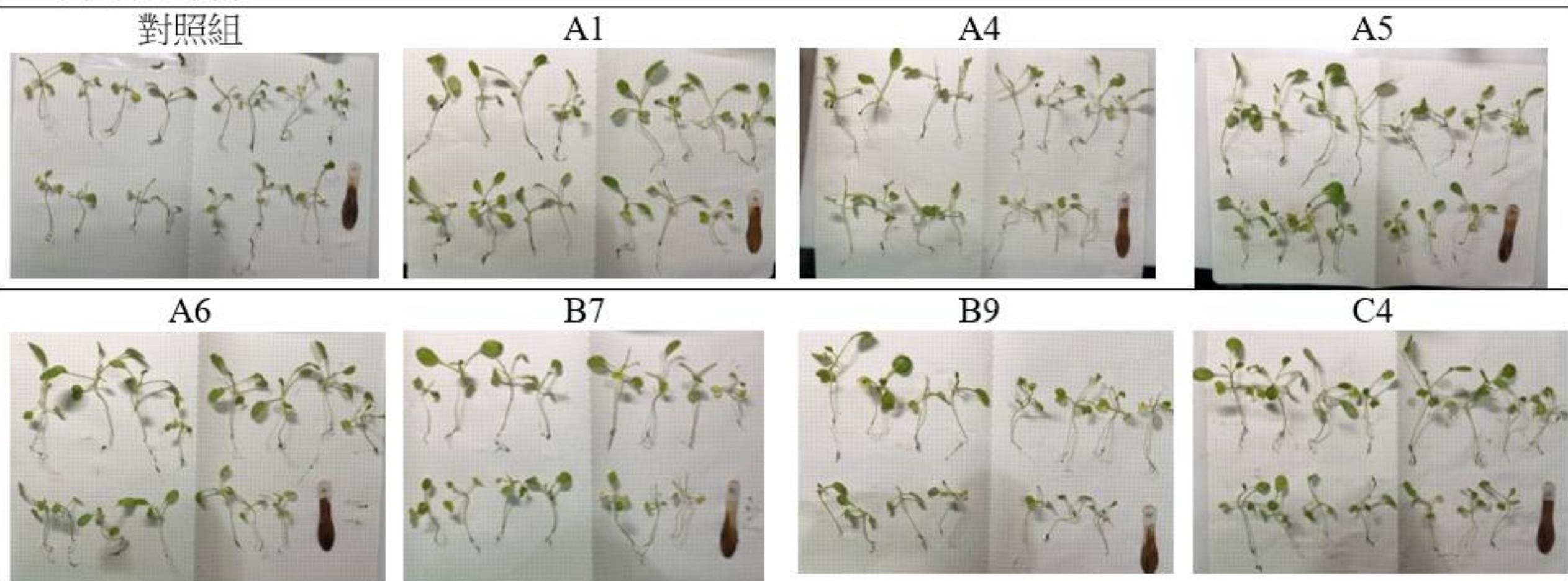
	對照組	A1	A4	A5	A6	B7	B9	C4
被蟲啃咬	有	無	有	無	有	有	有	無
總重量(g)	4.59	6.29	6.29	7.05	6.36	5.59	5.39	6.43

圖18
油菜在蟲逆境中生長情形



註:研究者自攝

圖19
油菜在蟲逆境中生長情形



註:研究者自攝

五、糞菌促進植物生長能力分析

- (一) 分泌生長素：A1>B7>C2>B5>B4>B2>A6>A4>B3>A5>C4>B6>B8。
- (二) 固氮：A1、A4、A5、A6、B2、B4、B5、B7、B9較好，B3、B6、C4較弱。

肆、討論

一、蚯蚓糞菌是否會促進農作物生長

我們自三種蚯蚓糞土中分離出14種微生物，經油菜生長測試後發現A1、A4、A5、A6、B7、B9、C4具有促進油菜生長能力，其中A1、A4、A5、A6來自印度藍蚯蚓，B7、B9來自非洲夜蚯蚓，C4來自歐洲紅蚯蚓，因此在本次實驗中發現印度藍蚯蚓可培養出促進油菜生長的微生物種類較其他兩種多。印度藍蚯蚓目前被歸類在歸化種，對生態影響或許較小，同時我們也證實了蚯蚓糞肥促進植物生長原因可能不僅只是養分含量較高，糞菌中的微生物也扮演了相當重要的角色。

菌株大多具有分泌IAA，固氮，分解纖維素、木質素、果膠等能力，在我們研究中也證實菌株確實可促僅種子提早發芽，使油菜和番茄的莖長度增加，草莓葉片面積變大，使植株看起來較為強健等功效。

二、蚯蚓糞菌是否會幫助油菜抗逆境

文獻指出 (Edwards & Bohlen, 2022) 蚯蚓糞肥可透過土壤性質改良、植物根系發展、增加土壤微生物活性和提高植物抗氧化力，提升作物水分利用效率和耐旱性，但文獻中並無明確指出蚓糞中有何種微生物可對抗乾旱環境。在本研究中我們從蚓糞分離培養出了7株可能可以協助植物抗逆境的微生物，C4可能菌種之一為蘇雲金芽孢桿菌 *Bacillus thuringiensis*，文獻指出其可透過合成IAA，促進植物根系生長，增加葉片含水量和光合作用速率，提高植物耐旱能力 (Armada et al., 2014)，而蘇雲金芽孢桿菌目前也是在農業上運用於防治紋白蝶幼蟲的生物製劑之一。A6可能菌種之一為枯草芽孢桿菌 *Bacillus subtilis*，枯草芽孢桿菌亦可藉由合成IAA，提高小麥在乾旱逆境下的光合速率，進而提高抵禦乾旱能力 (Barnawal et al., 2017)，枯草芽孢桿菌也在農業上運用於促進農作物生長或抵抗病蟲害。此外，本研究中分離出的菌種皆可分泌胞外多醣，文獻指出芽孢桿菌 (A6、B7、B9、C4可能為芽孢桿菌) 和假單胞菌 (A4為假單孢菌門) 產生的胞外多醣可保護細菌免受乾旱損害，阻擋鈉離子進入植物根部，並促進植物水分和養分吸收 (Sandhya et al., 2009)。且革蘭氏陽性菌中的放線菌 (A1為放射菌門) 和厚壁菌 (A6、B7、B9、C4為厚壁菌) 也因細胞壁中肽聚糖較厚，具有形成孢子的能力，使其在逆境下具有更強韌性 (Breitkreuz et al., 2021)。

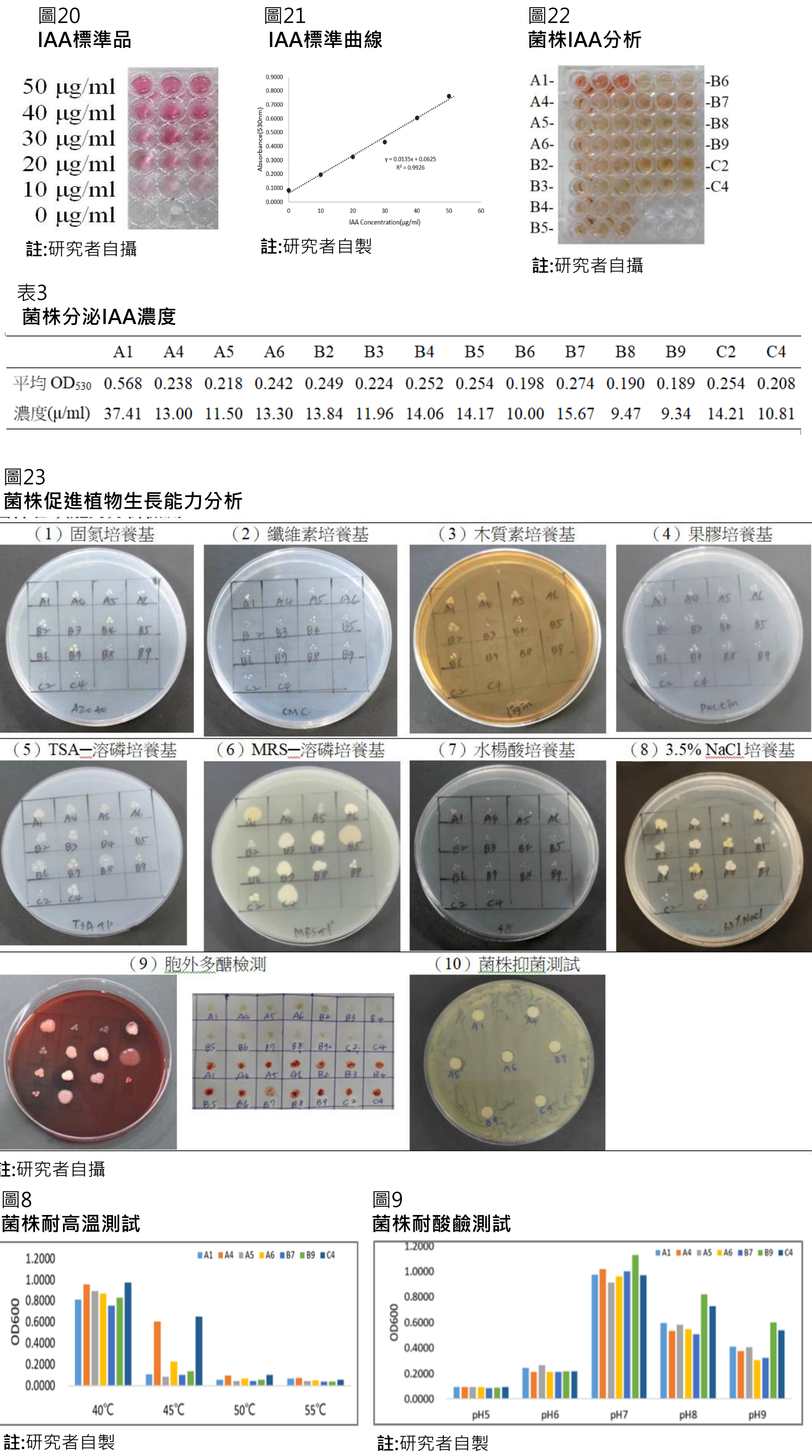
綜合以上敘述，我們認為利用微生物種植蔬果可促進農作物生長，使植株更為強健，提升植株抗逆境能力，可排除蚯蚓糞便中有害物質，在田間施灑經濟方便及減少化肥使用等優點，具有良好應用價值，值得未來進行更詳盡及深入的探究。

伍、結論

- 一、本研究自堆肥蚯蚓的糞土中分離出7株可促進油菜、番茄及草莓生長的微生物，並推測菌株具有協助植物抗逆境潛力。
- 二、 菌株大多可分泌生長素、胞外多醣，可固氮，可分解果膠、纖維素、木質素，可在高鹽、高溫中生長，在農業上具有良好應用價值。

陸、參考文獻 (同作品說明書)

- (三) 分解纖維素：A1、A4、A5、A6、B4、B6、B7、B9、C4
- (四) 分解木質素：A1、A4、A5、B2、B4、B6
- (五) 分解果膠：A1、A4、A5、A6、B3、B4、B6、B7、B8、B9、B2、C4。
- (六) 溶磷：A1及C2有微弱溶磷能力。
- (七) 分泌胞外多醣：菌落均具產胞外多醣能力。
- (八) 分解水楊酸：A1具有分解潛力。
- (九) 耐鹽：除了C2，其餘生長良好。
- (十) 耐高溫：各菌株在40℃時仍可生長，45℃時僅剩A4、A6、C4活性較佳，50℃後菌株幾乎不生長。
- (十一) 耐酸鹼：菌株可在pH6~9環境中生長。
- (十二) 抑制大腸桿菌：A6有抑菌圈約9 mm，B7、B9約 8 mm。



六、菌種鑑定

菌種鑑定結果顯示A1 為 *Glutamicibacter* 或 *Arthrobacter*，A4 為 *Lelliottia*，A5 為 *Pseudoxanthomonas*，A6、B7 為 *Bacillus* 或 *Priestia*，B9 為 *Lysinibacillus* 或 *Bacillus*，C4 為 *Bacillus*，種名不確定，但應無致病風險。

表4 蚯蚓糞菌促進植物生長能力分析表														菌種鑑定
蚯蚓來源	菌株	固氮	分解纖維素	分解木質素	分解果膠	3.5 % 氯化鈉	分泌生長素	溶磷	分解水楊酸	產胞外多醣	抗大腸桿菌	菌株耐高溫	菌株耐酸鹼	
印度藍	A1	○	△	○	△	○	○	△	△	○	X	40	6-9	<i>Glutamicibacter</i> 或 <i>Arthrobacter</i> <i>Lelliottia</i> <i>Pseudoxanthomonas</i> <i>Bacillus</i> 或 <i>Priestia</i>
	A4	○	△	○	○	○	○	X	X	○	X	45	6-9	
	A5	○	△	○	△	○	○	X	X	○	X	40	6-9	
	A6	○	△	X	○	○	○	X	X	○	X	45	6-9	
非洲夜	B2	○	X	○	△	○	○	X	X	○	-	-	-	<i>Bacillus</i> 或 <i>Priestia</i> <i>Bacillus</i> 或 <i>Priestia</i> <i>Lysinibacillus</i> 或 <i>Bacillus</i>
	B3	△	X	X	○	○	○	X	X	○	-	-	-	
	B4	△	△	△	○	○	○	X	X	○	-	-	-	
	B5	○	X	X	X	○	○	X	X	○	-	-	-	
	B6	△	△	○	○	○	○	X	X	○	-	-	-	
	B7	○	△	X	○	○	○	X	X	○	△	40	6-9	
	B8	X	X	X	○	○	○	X	X	○	-	-	-	
	B9	○	△	X	○	○	○	X	X	○	△	40	6-9	
歐洲紅	C2	X	X	X	X	X	○	X	X	○	-	-	-	<i>Bacillus</i>
	C4	△	△	X	△	○	○	X	X	○	X	45	6-9	

註：○具有此能力，△表現微弱，x 不具此能力，-未檢測