

2025年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號	060013
參展科別	植物學
作品名稱	探討濕地耐鹽菌對植物耐鹽及根部的交互作用
得獎獎項	一等獎 美國國際科技展覽會 ISEF

就讀學校	高雄市立明華國民中學
指導教師	蘇育弘 鄭楷騰
作者姓名	郭宥妤 賴瑜瑾 鍾侑均

關鍵詞	<u>濕地耐鹽菌、植物與菌交互作用、耐鹽能力</u>
-----	----------------------------

作者簡介



大家好，我們是來自高雄市明華國中三年級的學生賴瑜瑾、郭宥妤、鍾侑均，非常榮幸能夠參加這次的國際科展，在這超過一年的歲月裡，我們體驗到了很多特殊的經歷和國中教科書中絕對沒有的知識，這次的專題研究擴展了我們的視野，也使我們獲益良多，相信在往後的日子裡，這些難忘的回憶必定會成為日後前進的動力。

感謝一直帶領我們的老師和不斷支持我們的同學和家長，正是因為他們才讓我們在科學研究的道路上走得更遠更精采。

2025 年臺灣國際科學展覽會

研究報告

區別：南區

科別：植物學科

作品名稱：探討濕地耐鹽菌對植物耐鹽及根部的交互作用

關鍵詞：濕地耐鹽菌、植物與菌交互作用、耐鹽能力

編號：

（編號由國立臺灣科學教育館統一填列）

摘要

本研究從濕地篩選出可能為新種的耐鹽菌 *Oceanobacillus sp.*，暫命名為 OC2，其在無植物相伴狀態下不會降低土壤含鹽量，但卻在與植物共存後誘發特殊機轉，促使土壤含鹽量降低約 12.4%，並提升植物耐鹽能力，顯示 OC2 與植物存在特殊交互作用。深入研究發現，OC2 能產生 IAA，並吸引植物根部向其生長以利其進入根部，並在鹽逆境下分泌代謝物以刺激植物合成脯胺酸(增加達 98.5%)提升根部滲透壓、增加葉片類胡蘿蔔素及類黃酮含量以提升植物抗氧化力。植物方面，鹽逆境下植物分泌的化學物質會觸發 OC2 產生更多的 IAA(約 17%)，藉以刺激植物根系發展以利水分吸收，而 OC2 的存在會促進根部澱粉酶活性上升達 88%，以分解澱粉產生可溶性醣類供 OC2 使用，推測兩者存在共生關係。本研究展示新種耐鹽菌與植物的交互作用，期待透過此菌改善鹽化農地並能提升作物產量。

Abstract

This study identifies a potentially new salt-tolerant bacterium, *Oceanobacillus* sp., temporarily named OC2, selected from wetlands. In the absence of plant companions, OC2 does not reduce soil salinity; however, in coexistence with plants, it triggers unique mechanisms that lower soil salinity by approximately 12.4% and enhance plant salt tolerance, indicating a special interaction between OC2 and plants.

Our investigation reveals that OC2 produces IAA and attracts plant roots to grow toward it, facilitating its entry into the roots. Under salt stress, OC2 secretes metabolites that stimulate the plant to synthesize proline, increasing levels by up to 98.5%, which enhances root osmotic pressure, while also increasing carotenoids and flavonoids in leaves to boost the plant's antioxidant capacity.

In terms of the plant, the chemical substances secreted under salt stress trigger OC2 to produce more IAA (about 17%), stimulating root development for better water absorption. The presence of OC2 also enhances amylase activity in roots by up to 88%, breaking down starch to produce soluble sugars for OC2's use, suggesting a symbiotic relationship between the two.

This study highlights the interactions between the newly discovered salt-tolerant bacterium and plants, with the potential to improve saline-affected agricultural land and increase crop yields.

壹、研究動機



圖 1 中都濕地的海茄苳

台灣沿海的土壤，面臨鹽化問題，使得作物生長困難。除了選擇高耐鹽作物或是基因轉殖之外，是不是還有其它方式呢？土壤內許多微生物的存在，並大量集中於根際圈範圍，這些微生物能促進植物的生長，甚至提高作物對病原體的免疫力，因此我們篩選紅樹林海茄苳根系附近土壤，試著

找出耐鹽菌並探討能否提升作物耐鹽能力，並進一步討論菌是如何影響作物。此外，集中在根圈附近的微生物，會與植物的根部出現什麼樣的交互作用？希望能藉由這一系列的篩選與測試，了解濕地中的菌與作物之間的關係。

貳、研究目的

- 一、篩選濕地土壤內的耐鹽菌
- 二、耐鹽菌顯著提升植物的耐鹽能力
- 三、耐鹽菌對植物周圍土壤電解質的影響
- 四、植物與耐鹽菌間透過化學物質交互溝通影響
- 五、植物與耐鹽菌間的向性與共生關係



圖 2 濕地耐鹽菌與植物交互作用？

參、研究器材與設備

一、澆灌耐鹽菌農作物的種植條件

土壤鹽化，常造成作物無法生長，若提升作物的抗鹽能力，或許就有可能解決這個問題。為了解濕地土壤中的微生物，是否能影響作物的耐鹽能力，除了篩選合適的菌種之外，接著就是選擇測試的作物。文獻查詢得知，餐桌上常見的莧科的莧菜(*Amaranthus tricolor*)(圖 4)，則對鹽較為敏感，屬不耐鹽作物，因此我們選取莧菜，作為濕地菌的澆灌測試對象。以下為種植條件：

1. 光照條件：室內 LED 白燈 4 呎*12，光照 12 小時，照射距離約 30cm。(圖 5)
2. 土耕條件：黑土及培養土 1：1 混合，以育苗盆進行植種。

二、主要器材及藥品

1. 耐鹽菌的篩選

50ml 離心管、鏟子、刮勺、酒精、震盪混合器、滅菌釜、無菌操作台、冰箱、微量吸管、90mm 培養皿、三角玻棒、LB 培養基、血清瓶、震盪培養箱、接種環、滅菌膠帶、本生燈、電子天平、錐形瓶、鋁箔紙、氯化鈉

2. 探討耐鹽菌對作物生長的影響及與根的交互作用

測微軟體、IMAGE J 軟體、分光光度計、比色管、離心機、15ml 離心管、液態氮、研鉢、丙酮(萃取類胡蘿蔔素)、乙醇(萃取類黃酮)、水楊酸、茚三酮(測定根部脯胺酸,proline)、1.5ml 離心管、Salkowski reagent(測 IAA 用)、土壤 EC 值測定器

3. 作物與耐鹽菌間的向性與共生關係

PVC 三通管、DNS(測澱粉酶活性)、次氯酸鈉、恆溫水浴槽



圖 3 育苗盆內的莧菜幼苗



圖 4 室內 LED 燈種植情形



圖 5 耐鹽菌的篩選與測試

肆、研究過程及方法

◎查閱相關文獻

台灣的西部沿海區域，有著為數不少的土壤鹽害發生，因此，我們就在思考，鹽度高的濕地土壤內，是不是可能具有耐鹽菌種，而這些微生物是否能協助作物抵抗鹽害？植物與菌之間的交互作用又是什麼？以下是相關的文獻整理：

(一)文獻一、植物內生菌可促進作物生長，微生物學期刊。由培地茅分離出植物內生菌，具有合成植物賀爾蒙中的植物生長素的能力，促使葉菜類作物具較多葉子和根部之生長。

(二)文獻二、分析兩株枯草桿菌對促進植物生長及提高逆境耐受性的差異性影響，嘉義大學碩士論文。能增加植物對於高溫以及乾旱逆境之耐受性，且會使鮮物重增加。

(三) 文獻三、利用根圈益生菌提升台梗九號水稻秧苗對鹽逆境的耐受性，台灣農學會報。評估水稻根圈細菌對於水稻秧苗的鹽逆境緩解效果。實驗結果發現無論是接種單一菌株或是混合菌株皆可緩解水稻秧苗之鹽逆境（100 mM NaCl），使得鹽害指數下降。

(四)文獻四、菌根菌與土壤細菌間之交互作用，林業研究季刊。菌根菌參與了植物和土壤微生物的交互作用，將土壤中的礦物營養提供給植物，而宿主植物則將碳水化合物提供給菌根菌及其他土壤微生物。

關於濕地土壤的微生物對於作物耐鹽影響，國內的文獻較少提及，此外，植物與菌之間微妙的互動關係，也是我們想進一步探討的主軸。

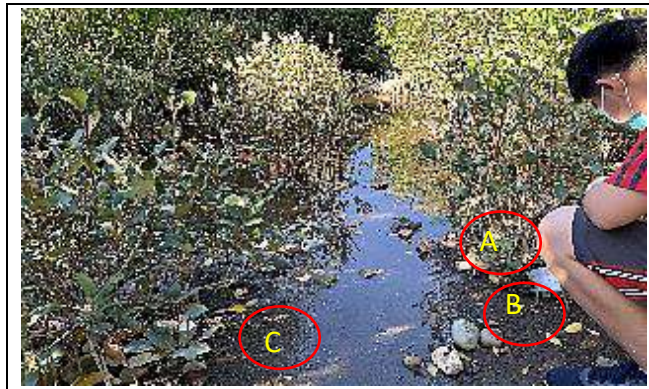
(五)研究流程



一、篩選濕地土壤內的耐鹽菌

(一) 紅樹林土壤取樣

1. 土壤取樣位置：取樣區域的樹種為海茄苳，根際圈(指環繞根表皮細胞 40mm 以內區域)，具許多與植物相關微生物，因此取樣根際圈土壤及其它位置(圖 6)如下：



A 區：海茄苳主根 40mm 範圍土壤

B 區：海茄苳氣生根 40mm 範圍土壤

C 區：無植物濕地土壤

註：於不同時間取樣 5 次，分為 ABC 三區

圖 6 濕地土壤取樣區域

2. 土壤取樣及處理方法

- (1) 以 75%酒精將鏟子及刮勺滅菌，分別於三個樣區，挖約 10cm 深取樣。並取回濕地的水，進行鹽度測量及製作稀釋用的無菌水。

- (2) 無菌操作台內秤量 1g 土，加入 9g 滅菌後的濕地水，震盪混合 1 分鐘。

註：滅菌釜滅菌條件，滅菌溫度達 121°C，1.2atm，15 分鐘。

- (3) 靜置後，將不同樣區上清液各取 1cc，進行序列稀釋，將濃度稀釋成 10^{-4} 、 10^{-5} 倍。

(二) 不同鹽度培養基篩選 (3~9%)

1. 將 1.5g agar 加入 1.5g LB，並加入氯化鈉，配製 100ml 不同鹽度(3、6、9%)的 LB 培養液。待滅菌結束，凝固成平面培養基，再倒置 1 天，觀察是否有雜菌污染後即可使用
2. 將稀釋成 10^{-4} 、 10^{-5} 倍濃度的不同土壤上清液，各吸取 100 μ l，滴至不同鹽度(3、6、9%)LB 平面培養基，塗抹封好後，倒置放入恆溫培養箱(30°C)，24hr 後進行觀察。

3. 純化菌種與鑑種

(三) 菌種純化與鑑種

1. 比較不同鹽度培養基，將外觀相似菌種，以接種環取出，劃線法純化菌種。再選取培養的單一菌落，再純化一次，確認是否為單一菌落(圖 7)。



圖 7 純化菌種的單一菌落

2. 將篩選純化之菌落送至大學進行菌種鑑定。

(四) 取樣菌種在不同鹽度下的生長情形(0%~15%)

1. 不同鹽度下的生長：將鑑種後兩株菌 OC1、OC2，以接種環劃線在鹽度為 0、0.5、1、3、6、9、12、15% 的 LB 培養基，24hr 後觀察菌落生長，觀察 3 日進行記錄。
2. 淡水 0% 下的生長曲線：挑起 0% 單一菌落並接種至滅菌的液態培養基，以 110rpm、30°C 震盪培養 18hr，再吸取 1cc 菌液加至 50ml 的液態培養基培養，以光度計 OD600 進行測定(圖 8)，前 6 小時，每隔 1hr 測定一次，並於第 18hr 測定，三重覆平均。

二、耐鹽菌顯著提升植物的耐鹽能力

(一) 鹽逆境下，對種子發芽的影響

1. 菌種濃度與菌落數：將培養 18 小時的 OC2 (OD600 值約介於 0.8~1.2 之間) 接種至平面培養基，再培養 24 小時後計算菌落數，三重覆平均得知結果為 1.296×10^8 CFU/ml。
2. 以莧菜作為耐鹽能力探討：將莧菜種子(圖 9)分別浸泡在培養 18hr 的 OC2 菌液 20ml 中 1hr，並以無接菌、LB 作為對照組。接著分別置於不同鹽濃度(0、0.5、1、2、3%)的培養皿，待 5 天後計算各培養皿內的種子發芽數量。種子數 N=20，三重覆取平均。

(二) 鹽逆境下，對植物生長的影響 (根長、根粗、根毛、生物質量、最大葉面積)

◎耐鹽菌接種，ctrl 組澆水、LB 組以無菌 LB 澆灌、菌液組為 OC2 澆灌約 5cc。

◎鹽逆境處理：每日以 0、0.5、1、2、3% 鹽度澆至盆底流出，第 7 天記錄(N=4，三重覆)

1. 生物質量：將植株洗淨並吸取多餘水分後，於電子天平秤量鮮重。
2. 最大葉面積：取不同處理的最大葉子，於尺規旁拍照後以軟體進行葉面積計算(圖 10)。
3. 根長：洗去土壤後，以電子游標尺量測根長
4. 根粗及根毛數：拍照量測根成熟部的橫切直徑，並計算鹽逆境下，有無加菌根毛數量。



圖 8 光度計測定生長曲線



圖 9 種子以耐鹽菌菌液處理



圖 10 以 IMAGE J 計算面積

三、耐鹽菌對植物周圍土壤電解質的影響

(一) 土壤的電解質，主要是氯化鈉造成的嗎？

1. 測定澆灌淡水至底部流出的小紅盆土壤內導電度(EC 值)。
2. 2%氯化鈉澆灌至底部流出，連續 3 日澆灌後測量 EC 值。



圖 11 耐鹽菌是否降解電解質

(二) 耐鹽菌是否能降解電解質

1. 培養 18hr 之 OC2 菌液離心後，倒出上清液，加入 2%鹽水 15ml 於沉澱物。
2. 將含菌鹽水連續 3 日，澆灌於 2%鹽土小紅盆，測定 EC 值。(N=6，三重覆)

(三) 有植物的條件下，耐鹽菌是否能降解電解質

1. 與上述實驗含 OC2 菌之鹽水(2%)，澆灌至種有莧菜的盆栽內。
2. 連續 3 日澆灌處理後，測定 EC 值。(N=6，三重覆)
3. 確認植物是否吸收鹽，洗淨莧菜並磨碎，加水比較有無加菌的 EC 值。(N=6，三重覆)

四、植物與耐鹽菌間透過化學物質交互溝通影響

(一) 耐鹽菌提升植物本身抗鹽能力的可能原因

◎葉內抗氧化物質

1. 類胡蘿蔔素

- (1) 將不同鹽逆境處理組別(ctrl-LB-OC2)之葉片稱重，並以液態氮磨成粉末(圖 22)。
- (2) 80%丙酮 10ml 進行萃取(樣本重、萃取液為 1：100)。
- (3) 萃取液以 4500rpm 離心 5 分鐘，移至比色管，測定葉綠素 a、葉綠素 b、類胡蘿蔔素分別於 663.6、646.6、440.5nm 之吸光值。
- (4) 計算葉綠素 a 含量($\mu\text{g/g}$)= $(12.25 \times A_{663.6} - 2.55 \times A_{646.6}) \times \text{萃取液}(\text{ml}) / \text{g}$
葉綠素 b 含量($\mu\text{g/g}$)= $(20.31 \times A_{646.6} - 2.55 \times A_{663.6}) \times \text{萃取液}(\text{ml}) / \text{g}$
類胡蘿蔔素含量($\mu\text{g/g}$)= $4.69 \times A_{440.5} \times \text{萃取液}(\text{ml}) / \text{g} - 0.267 (\text{Chl a} + \text{Chl b})$

2. 類黃酮

- (1) 將不同鹽逆境處理組別(ctrl-LB-OC2)之葉片稱重，並以液態氮磨成粉末。
- (2) 以含 1% HCl 的乙醇溶液 10ml 萃取 (樣本重、萃取液為 1：100)。
- (3) 萃取液在 4°C、3000rpm 離心 10 分，移至比色管，測定 540nm 之吸光值

(4) 計算類黃酮含量：類黃酮含量(A540/g) = OD 540 x 萃取液體積(ml)/g

◎根部提高滲透壓物質~脯胺酸 proline

- (1) 取 2%鹽逆境處理的組別(ctrl-LB-OC2)，將根部土壤洗淨秤重
- (2) 磨根後，加 3%磺基水楊酸(根重：水楊酸為 1：10)，14000rpm 離心 5 分鐘。
- (3) 取出 0.2ml 上清液，加入 0.2ml 醋酸、0.2ml 茚三酮(圖 12)，置入沸水浴 1hr。
註：茚三酮配置~秤 0.25g 茚三酮，加入 6ml 醋酸、4ml 6M 磷酸，加熱溶解。
- (4) 由沸水浴取出後，置於冰上急速冷卻 3 分鐘，於抽風櫃加入甲苯 0.8ml。
- (5) 以 14000rpm 離心 2 分鐘後，取上清液，測定 520nm 之吸光值。

(二) 菌代謝物的化學物質會影響植物？

1. 設立組別依序為 ctrl- OC2 上清液(代謝物)- OC2 菌液。
2. 培養 18hr 的 OC2 菌液，以 3000rpm 離心 5 分鐘後取得上清液，連續澆灌 3 天。
3. 2%鹽水澆灌至 7 天，測量生物質量、根長及抗氧化代謝物~類胡蘿蔔素、類黃酮含量。

(三) 菌代謝物中的可能化學成份

註：IAA 測定，以 Salkowski reagent 方法進行測定

註：Salkowski 試劑配製，取 3ml 硫酸加入 5ml 蒸餾水，再加入 0.5M 氯化鐵 0.1ml。

1. 將不同條件下，培養 18hr 的菌液，以 3000rpm 離心 5 分鐘。
2. 各取 1ml 上清液於比色管內，加入 Salkowski 試劑 2ml(圖 13)，於暗處反應 30 分鐘。
3. 以光度計量測波長 530nm 之吸光值。



圖 12 茚三酮測定 proline



圖 13 Salkowski 法測定 IAA



圖 14 過濾逆境下根萃取液

(四) 根在鹽逆境下，對耐鹽菌 IAA 的影響

1. 分別將 0%、2%鹽處理之植株根部洗淨，秤量等重的根並加入 1ml 蒸餾水。
2. 利用無菌過濾膜將根萃取液過濾(圖 14)，各吸取濾液 100ul，加入培養 8hr 之菌液。
3. 培養 16 小時後，離心取出上清液，以 Salkowski reagent 方法測波長 530nm 吸光值。

五、植物與耐鹽菌間的向性與共生關係

(一) 植物根對菌的向性生長 (根重及支根數)

1. 將育苗盆內的幼苗移至 pvc 三通管中間，兩側接 50ml 離心管(圖 15)。
2. 兩側離心管之土壤設定，分別為 0%土- 0%土、0%土- (0%土+OC2 菌)。
3. 2 週後，取下兩側離心管，洗淨根部並計算根重及根系數量。(N=6，二重覆)

(二) 菌是否進入根部

1. 分別設立有、無澆菌組。取澆灌菌液及控制組 3 天作物根部，以 0.5%次氯酸鈉浸泡 1 分鐘，將根部表面滅菌(圖 16)。
2. 於無菌操作台內以無菌水洗根部，並吸取洗下的無菌水 100 μ l，滴至 0%LB 培養基塗盤，以確認根表面是否滅菌完全。
3. 液態氮磨碎根後，加入無菌水(根：無菌水為 1：10)，吸取 100 μ l，滴至 0%LB 培養基塗盤，培養 24hr 後，觀察是否有菌落形成。

(三) 菌對根內物質~澱粉酶活性影響

註：DNS 溶液配製，0.8gDNS+0.5g NaOH+15g 酒石酸，並加水至 50ml 溶解，測試還原糖。

1. 以液態氮磨碎等重的根，加入 50mM 醋酸鈉 1cc。
2. 置於室溫 15 分鐘，以 4°C、6000rpm 離心 20 分鐘。
3. 取上清液 100ul 至 1.5ml 離心管內，加入 50mM 醋酸鈉 100ul，靜置 15 分鐘。
4. 加入 1%澱粉液 0.2ml，並於 38°C 下反應 60 分鐘(圖 17)。
5. 加入 2M 氫氧化鈉 50ul 以及 500ul DNS 溶液，並於 100°C 下反應 5 分鐘。
6. 冰浴冷卻後，置入比色管，以光度計測量波長 540nm 之吸光值。



圖 15 根對菌的向性實驗



圖 16 根表面進行滅菌處理



圖 17 根萃取液與澱粉反應

伍、研究結果

一、篩選濕地土壤內的耐鹽菌

濕地因潮汐關係，鹽度變化大，取樣的中都濕地紅樹林鹽度變化約在 3.3~5.5%之間。

(一)濕地土壤微生物的篩選與鑑種

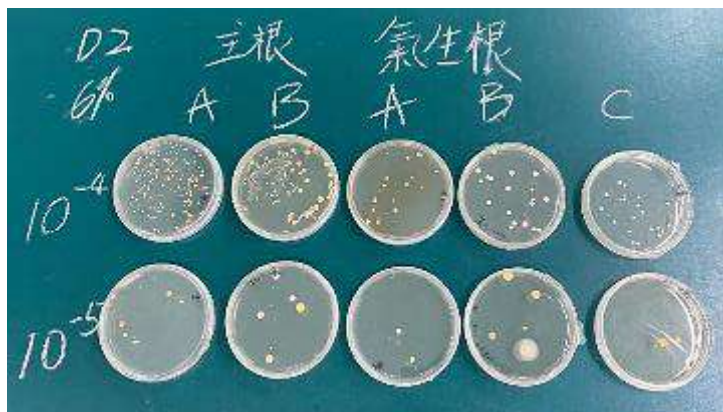


圖 18a 濕地土壤的菌落 (不同濃度稀釋，鹽度 6% LB)



圖 18b 劃線分離目標菌落

由不同區域的土壤篩選結果來看，即使是高於濕地鹽度的培養基，仍有不同型態的菌落生長，顯示濕地土壤內的確有耐鹽菌的存在(圖 18a)。初步的篩選，是想要找出能在鹽度 3-6-9%的培養基，以及不同濕地取樣區域，皆能出現的共同菌種，由菌落的外觀型態、表面光滑程度、邊緣、顏色等等進行整理。並將目標菌種挑出，進行劃線法分離出 6 盤菌落(圖 18c)，在濕地不同區域皆出現，能於 9%鹽度下生存之菌種，送至科技大學進行鑑種。

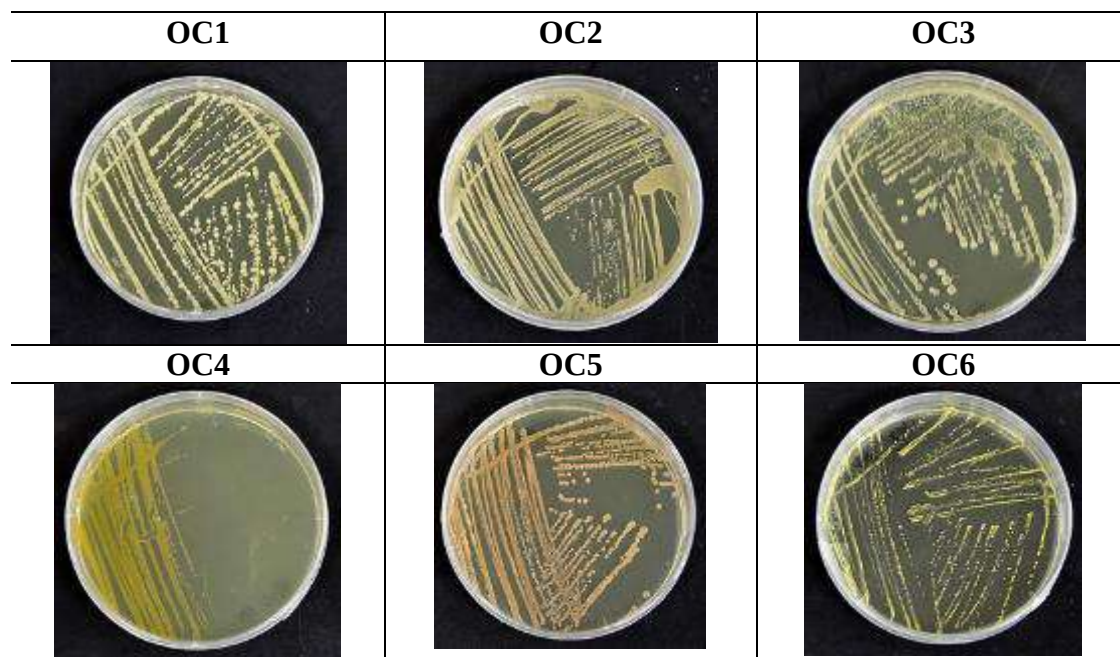


圖 18c 選取 6 盤能於 9%鹽度培養基生存菌種(命名為 OC1~6)，進行鑑種

協助鑑種教授建議先鑑定 OC1 至 OC3 這 3 盤菌，並以鑑種結果作為後續的實驗探究，這 3 株菌的鑑定結果整理如下：

Samples	Species	Identity%
OC1	<i>Oceanobacillus</i> sp.	87.16
OC2	<i>Oceanobacillus</i> sp.	90.03
OC3	<i>Bacillus velezensis</i>	99.34

OC1、OC2 皆為 *Oceanobacillus* 屬 (大洋芽胞桿菌屬) 的菌種，協助鑑種的教授指出，這 2 株菌與大洋芽胞桿菌屬的其它菌種，Identity 相似度不高，很有可能為新種，新種的部份，可能還需要進一步的定序與分析。此外，OC3 為 *Bacillus velezensis* (貝萊斯芽胞桿菌)，是目前有上市的益生菌，具有促進植物生長、抑制病原菌的能力，在中國則被製成動物腸道益生菌，混入飼料中使用。

土壤濕地取得的菌種可知，OC3 為已知的益生菌，那麼未知的 OC1、OC2 是不是也有可能為益生菌呢？接下來，我們開始對這兩種菌進行探討。

(二) 取樣菌種在不同鹽度下的生長情形

1. 不同鹽度下的菌落培養

濕地篩選結果，顯示 OC1、OC2 能於 3~9% 鹽度生長，我們很好奇的是，更高鹽度的生長情形如何呢？此外，除了較高鹽度的環境之外，農作物較常遭遇的鹽害，為較低鹽度的環境，因此我們也進行較鹽度(0、0.5、1%)進行培養，以了解菌在不同鹽度下的生長情形。

(1) 較高鹽度的生長情形

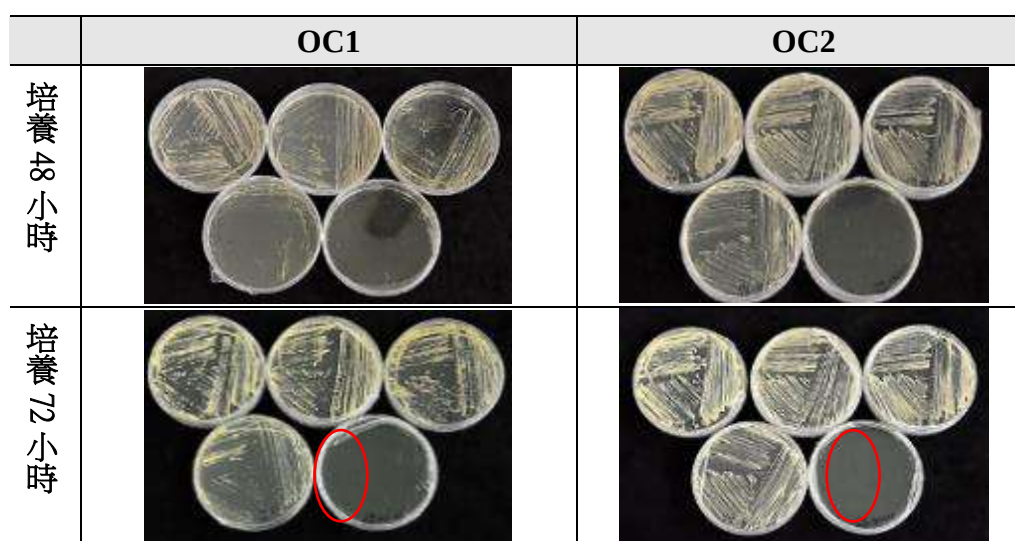


圖 19a 高鹽 LB 培養基。上排左至右，鹽度為 3-6-9%；下排左至右，鹽度為 12-15%

(2) 較低鹽度的生長情形

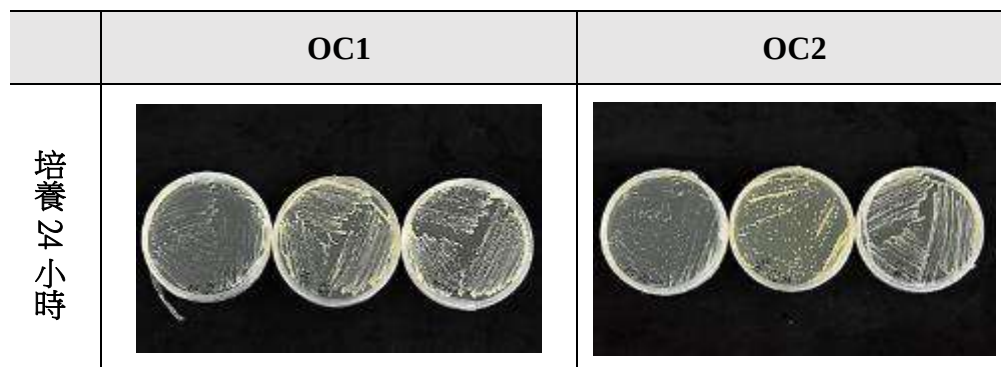


圖 19b 無鹽、低鹽 LB 培養基，生長情形。左至右，鹽度為 0-0.5-1%。

在鹽度 3~12%，兩株菌皆有不錯的生長情形，但 15% 的培養基卻無菌落出現；至第 3 天，可發現在 15% 底下開始生長，顯示 OC1、OC2 耐鹽能力極佳，雖然生長緩慢，但仍能在高鹽下生存。淡水 0%、低鹽 0.5、1% 培養基的生長，可看出培養 24 小時，即有大量菌落產生，顯示 OC1、OC2 可在淡水環境下存活，屬於廣鹽性微生物，由 0~15% 皆能生存。

2. 淡水 0% 下的生長曲線

在了解篩選的菌為廣鹽性菌種後，接著探討的是這些能耐鹽的菌，能對作物產生抗鹽的協助嗎？而作物的澆灌，打算由 0% 的淡水開始，因此試著探討 0% 無鹽環境下的生長曲線。

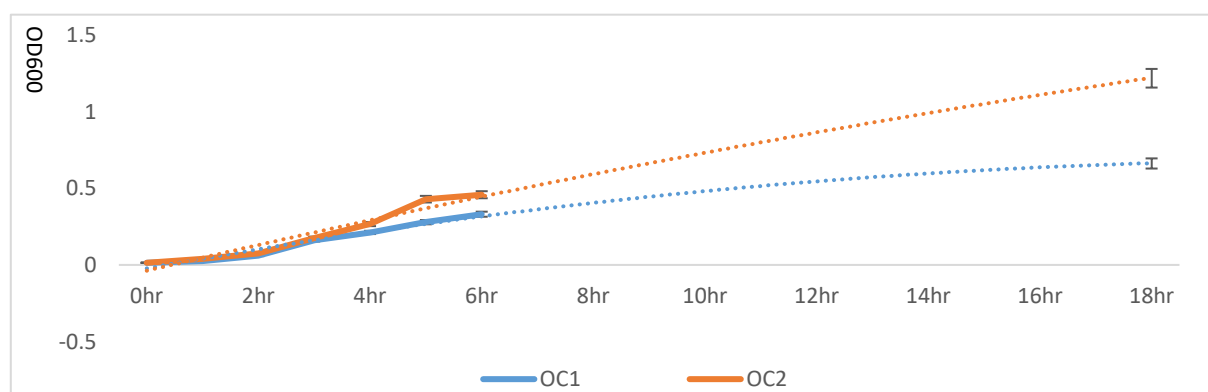


圖 20a 無鹽(0%)液態培養下之 OD 值比較

結果顯示 1~3 小時，三株菌的生長差異不大，但在第 18 小時，可看出明顯的差異，OC2 為 1.2，而 OC1 僅為 0.6，也表示 OC1 生長速度在淡水環境下較緩和，濃度約為另外兩株菌的一半。OC1、OC2、OC3 皆能在 0~15% 鹽度下生存，但考量之後要用菌液來進行植物的澆灌，以淡水 0% 的生長情形而言，OC2 的生長較好，接下來的實驗將以 OC2 菌為主。

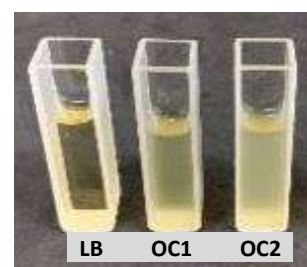


圖 20b 培養 18 小時菌液

二、耐鹽菌顯著提升植物的耐鹽能力

耐鹽菌 OC2 能在不同鹽度下生存，具廣鹽性。接下來開始探討菌是否能顯著提升植物的耐鹽能力，這個部分區分為對種子及幼苗的影響，以不耐鹽的作物~莧菜進行了解。

(一)鹽逆境下，對種子發芽的影響

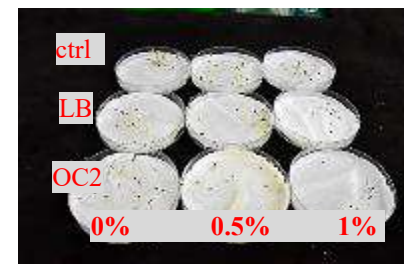
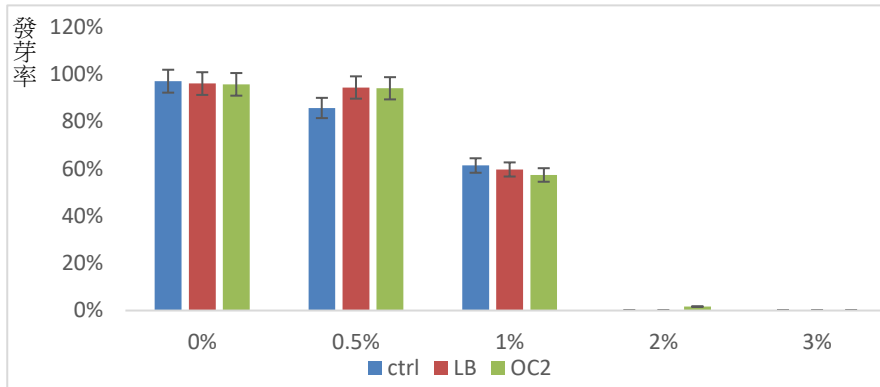


圖 21b 莧菜種子發芽情形

圖 21a 不同鹽逆境，耐鹽菌對莧菜發芽率

耐鹽菌 OC2 是否能提升種子在鹽逆境下發芽率？添加 OC2 的組別與 ctrl 及 LB 組差異不大 ($p > .05$)，且 0.5%鹽度下，發芽率即開始大幅下降。

由種子發芽率而言，耐鹽菌 OC2 無法提升種子在鹽逆境下的發芽率。

(二)鹽逆境下，對植物生長的影響

種子在鹽逆境下的發芽率，並無法藉由添加 OC2 而提升，然而鹽逆境下的發芽與幼苗的生長，機制並不相同，因此接著我們探討菌對植物幼苗耐鹽能力的影響。

1. 對生物質量的影響

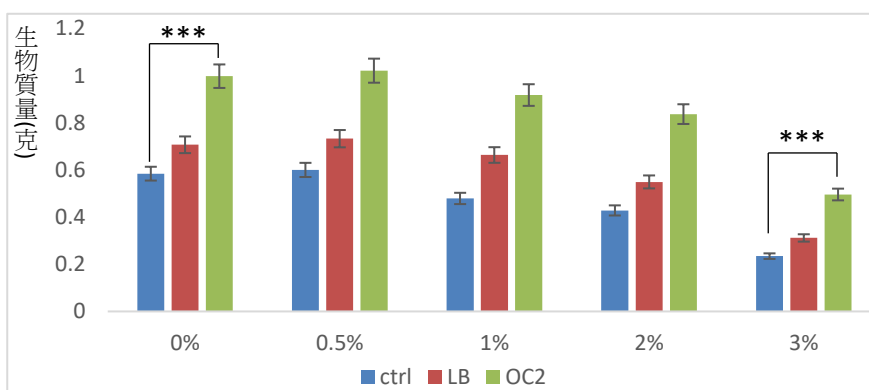


圖 22b 0%淡水下加菌之生長

圖 22a 不同鹽逆境，耐鹽菌對莧菜生物質量的影響

在淡水 0%下，灌耐鹽菌與其它組比相比，出現顯著的差異($p < .001$)，生長較好、生物質量較大，澆灌 LB 組別生物質量較 ctrl 好，可能與 LB 內含的營養成份有關。

2. 對葉面積的影響

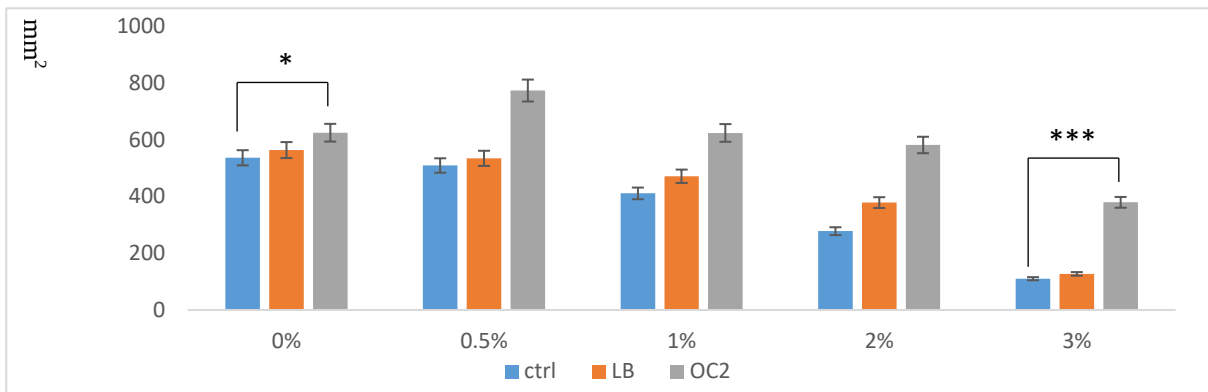


圖 23 不同鹽逆境，耐鹽菌對莧菜葉面積的影響

在葉面積方面，與生物質量結果類似，由淡水 0%的組別即可看出澆灌菌與 ctrl 相比較好的表現($p < .05$)，而鹽度提升至 0.5%時，差距開始變大，由於莧菜對鹽較為敏感，因此在 3%的組別，ctrl 組出現枯萎現象，面積也大幅下降。添加菌對葉面積的影響可看出，於 0.5%之後的鹽度，菌對葉面積的提升，與控制組相比有較為顯著的差異。

3. 對根長的影響

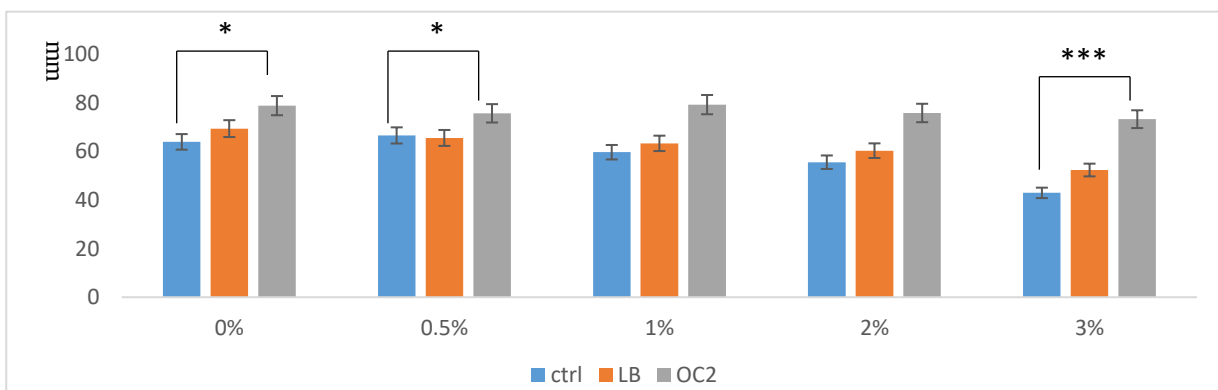


圖 24a 不同鹽逆境，耐鹽菌對莧菜根長的影響

耐鹽菌對植物根的影響，在淡水環境(0%)下，即有明顯的差異($p < .05$)，而隨著鹽度提升，澆菌的組別與 ctrl 相比有更明顯的差異，顯示菌能提升根部在鹽逆境下的表現。



圖 24b 3%鹽逆境下葉面積

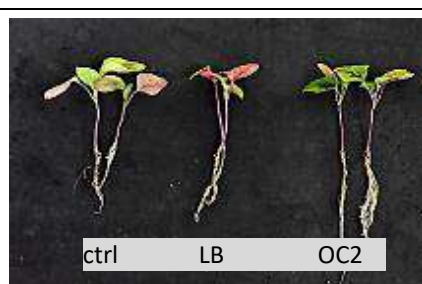


圖 24c 0.5%鹽逆境之根長

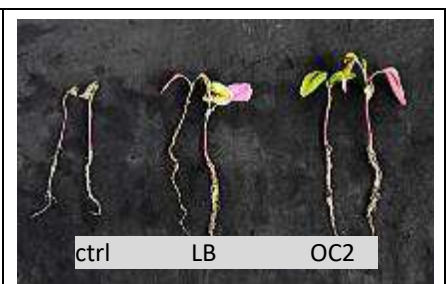


圖 24d 3%鹽逆境之根長

4. 耐鹽菌的對根粗及根毛數的影響

在根長的量測上，發現在較高鹽度的環境下，添加菌的組別有較好的生長，我們好奇在較高鹽度環境下，菌對根的內部及根毛數有什麼影響，因此接著我們將 2%鹽逆境下的根，進行根橫切並比較根毛數量。

(1) 對根粗的影響

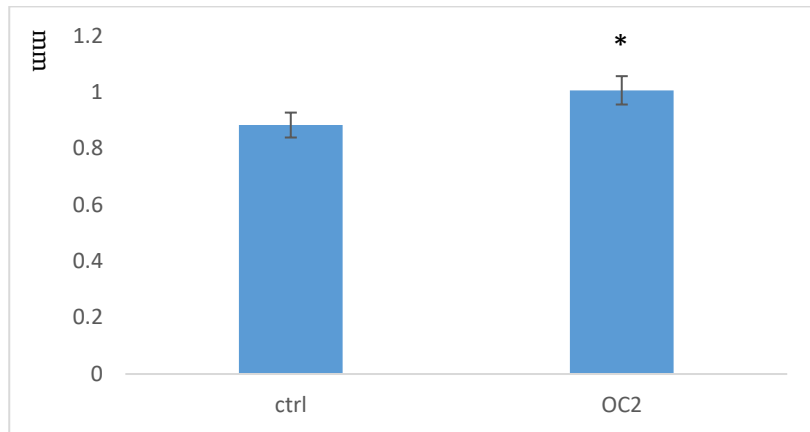


圖 25a 2%鹽逆境下，耐鹽菌對根粗的影響

顯微測量的結果，ctrl 的成熟部根粗平均為 0.883mm；添加 OC2 則為 1.006mm，兩組具顯著差異($p < .05$)，顯示耐鹽菌不僅對根長造成影響，也增加根部的橫切面積。

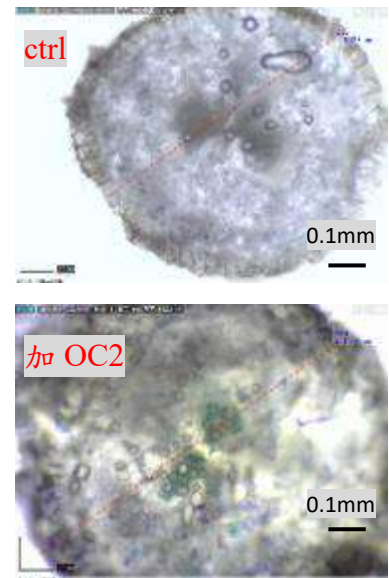


圖 25b 有無菌對根粗的比較

(2) 對根毛數量的影響

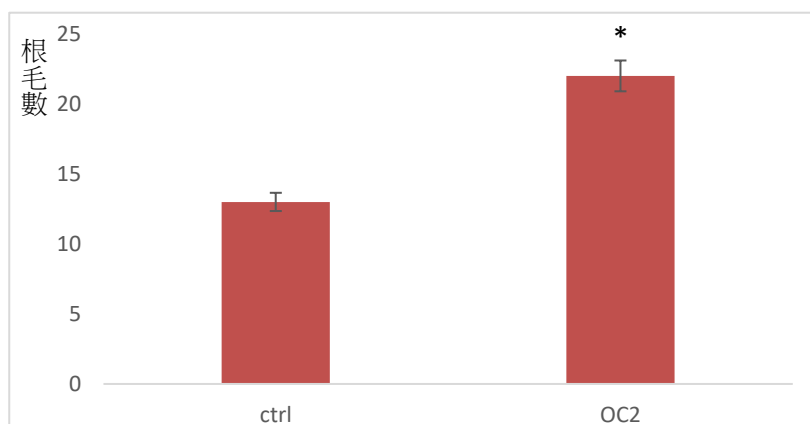


圖 25c 2%鹽逆境下，耐鹽菌對根毛數量的影響

在根毛數量的差異上，ctrl 組在單位視野下的根毛數為 13.5 根，而 OC2 組則為 22.3 根，達顯著差異($p < .05$)。

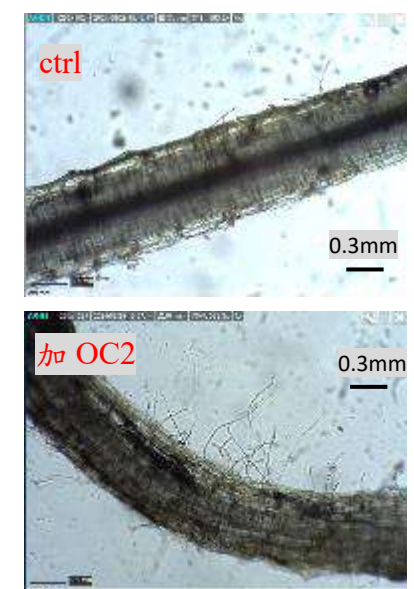


圖 25d 有無菌對根毛的比較

綜合來看耐鹽菌對植物的影響，雖然 OC2 無法提升鹽害下的種子發芽率，但對植物耐鹽方面，不僅在淡水 0%下能促進生長，且能在鹽逆境下，顯著提升植物的耐鹽能力，

三、耐鹽菌對植物周圍土壤電解質的影響

上個實驗，了解耐鹽菌 OC2 能顯著提升植物的耐鹽能力，添加菌的組別中，根長、根粗及根毛數量皆有顯著差異。根部是面對土壤鹽化的第一道防線，耐鹽菌會不會藉由降解土壤中的鹽分，使得作物的抗鹽能力有所提升？

(一)土壤的電解質，主要是由添加的鹽造成的嗎？

造成土壤鹽害的電解質有許多種，而我們模擬的鹽逆境，是利用添加鹽水(氯化鈉)，為釐清這是否是造成土壤電解質改變的主因，首先比較添加 2%鹽水的土壤電解質變化。

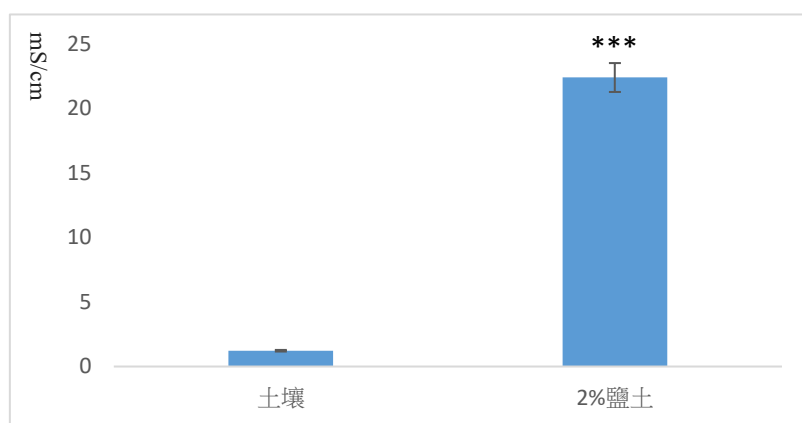


圖 26 2%氯化鈉鹽土與土壤 EC 值比較

以 2%氯化鈉造成鹽逆境的鹽土，EC 值平均為 22.38，淡水澆灌的土壤平均為 1.22，添加的鹽水造成土壤 EC 值上升達到 18 倍，此時土壤中的電解質是以外加的氯化鈉為主。

(二)耐鹽菌是否能降解土壤中的電解質？

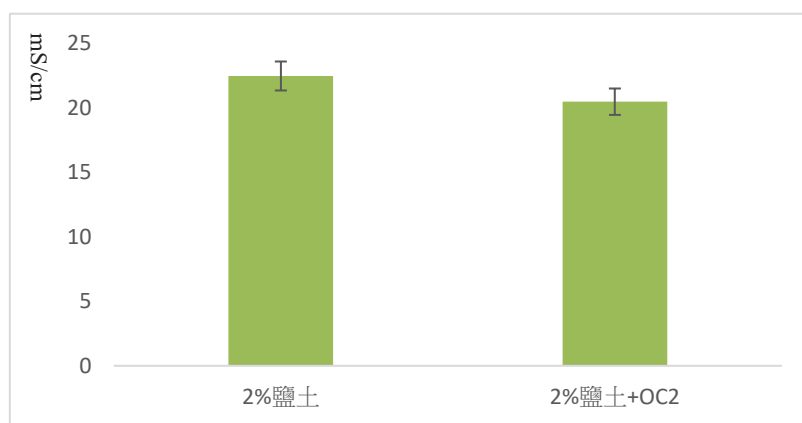


圖 27 耐鹽菌對 2%鹽土的 EC 值降解影響

添加 OC2 耐鹽菌及 2%鹽土之 EC 值分別為 20.46、22.45，未達顯著差異($p = 0.09$)，結果顯示耐鹽菌並無法吸收土壤內的電解質。

原先假設存活於鹽度變化大的耐鹽菌，能吸收環境中的電解質，但實驗結果卻非如此，OC2 並無法降解土壤中的 EC 值，然而我們取得的耐鹽菌是來自根際圈周遭的土壤，耐鹽菌若有植物的情況下，是否有降解電解質的可能呢？

(三)有植物的條件下，耐鹽菌能否降解電解質

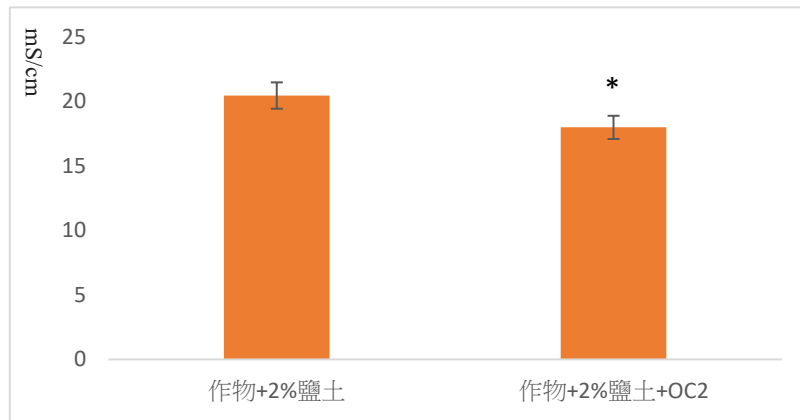


圖 28a 有無加菌，對種植植物土壤 EC 值影響

種植植物土壤的 EC 值為 20.44，添加耐鹽菌的土壤 EC 值則為 17.98，兩者之 p 值為 0.02，達顯著差異。這表示在有種植植物的情況下，OC2 能夠降解土壤中的電解質，但此時 EC 值的下降，會不會是耐鹽菌促進了植物吸收電解質所造成的？接著，我們將植物磨碎加水，比較體內的電解質含量。

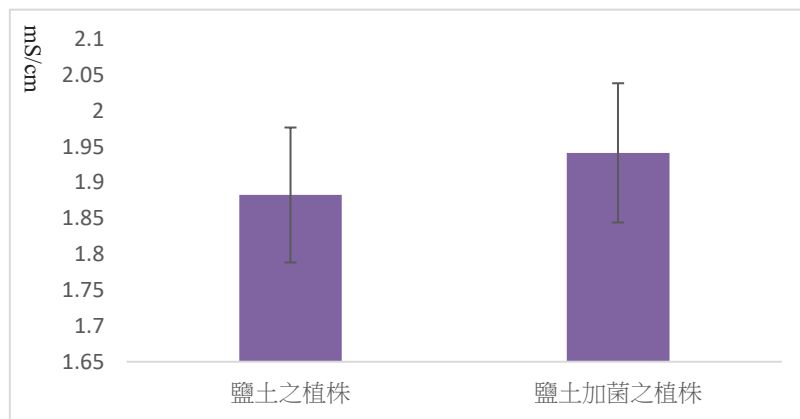


圖 28b 有無加菌，對植物本身 EC 值的影響

鹽土無加菌及有加菌的植物本身 EC 值，分別為 1.88 及 1.94 ($p = 0.11$ ，未達顯著差異)，植物植株體內的 EC 值與是否加菌無關，也就是說加菌造成土壤電解質下降，是耐鹽菌本身吸附電解質，而不是促進植物吸收。

綜合以上，耐鹽菌 OC2 在對土壤電解質降解方面，OC2 本身在鹽土中並無法降解 EC 值，而與植物共存時，則會有效下降土壤中的 EC 值，進而減輕植物在鹽逆境中的壓力。

四、植物與耐鹽菌間透過化學物質交互溝通影響

上個實驗中，我們發現了耐鹽菌 OC2 特別的現象，也就是僅有在和植物共存時，才會啟動吸收土壤電解質的功能，而單獨存在於土壤則不會，這是否暗示菌與植物之間具有特別的共生關係呢？接著，我們探討植物與菌間的交互影響。

(一)耐鹽菌提升植物抗鹽能力的可能原因

鹽逆境會造成植物氧化壓力升高、根部脫水等。耐鹽菌能提升植物的耐鹽能力，這顯示了在添加菌的條件下，耐鹽菌可能影響了植物體內的抗氧化能力及根部滲透壓的改變，因此我們針對葉內的抗氧化物質及調高根部滲透壓的脯胺酸(proline)進行討論。

1. 葉內的抗氧化物質

(1) 類胡蘿蔔素

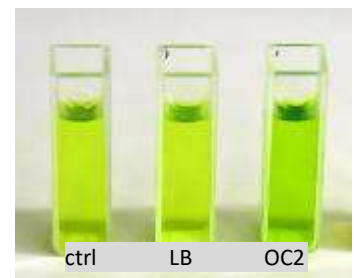
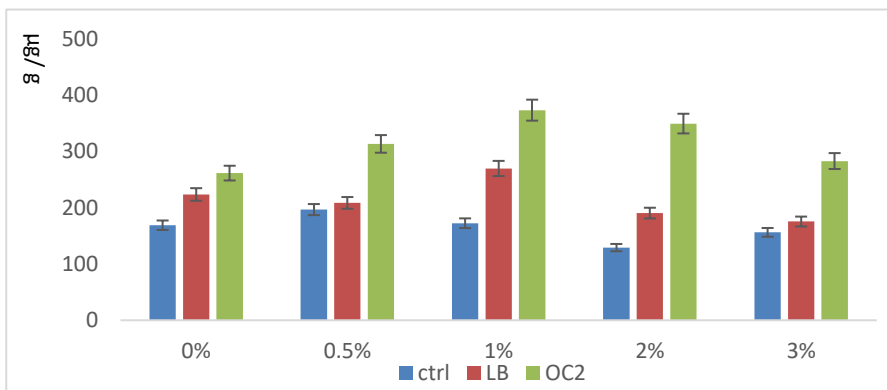


圖 29b 2%莧菜類胡蘿蔔素

圖 29a 不同鹽逆境，耐鹽菌對莧菜類胡蘿蔔素含量的影響

淡水環境開始，添加耐鹽菌的組別，即有明顯的含量增加趨勢，且在鹽度開始上升時(0.5%)，出現大幅增加的情形(OC2 組較 ctrl 組增加約 59.32%)。

(2) 類黃酮

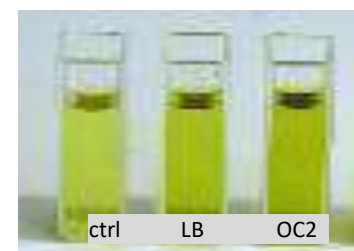
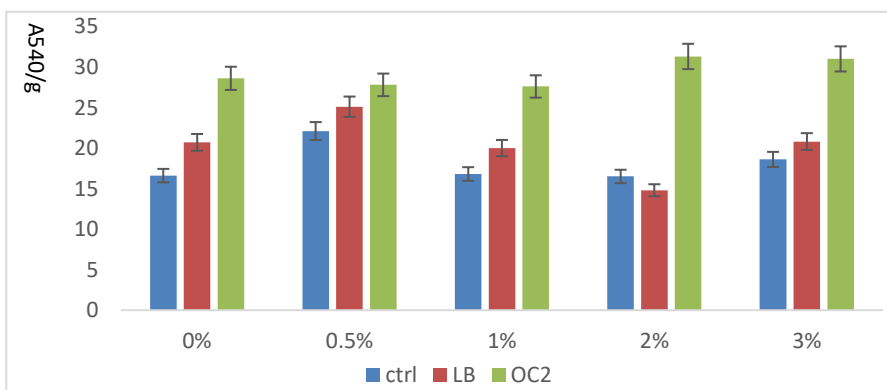


圖 29d 2%莧菜類黃酮

圖 29c 不同鹽逆境，耐鹽菌對莧菜類黃酮含量的影響

植物體內類黃酮含量的變化與類胡蘿蔔素類似，由 0%淡水開始，添加 OC2 組別之類黃酮含量均顯著高於未添加及 LB 組，顯示耐鹽菌的確顯著提高了植物本身在鹽逆境下的抗氧化物質含量。

2. 根部提高滲透壓物質~脯氨酸 proline

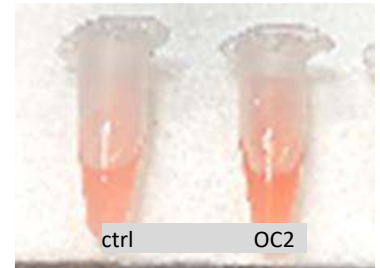
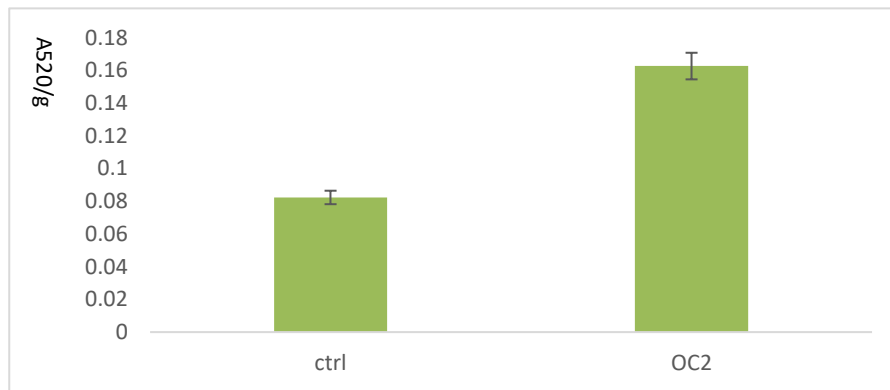


圖 30b 莧菜根 proline 比較

圖 30a 2%鹽逆境下，莧菜根內脯氨酸含量比較

莧菜根內含量結果，添加耐鹽菌的組別，根部的 proline 含量大幅提升，OC2 與 ctrl 組相較，proline 含量增加達 98.5%。耐鹽菌能促進植物提升根部的胺基酸濃度，藉由滲透壓的升高，除避免脫水外，並吸收更多的水分及養分。

(二)菌代謝物的化學物質會影響植物？

耐鹽菌與植物共存時，除了菌能降解土壤中的 EC 值，也能促進植物本身提高抗鹽能力的物質含量，這顯示植物與菌之間存在著特別的交互作用影響，而菌是藉由代謝物來傳遞訊息，促進植物在逆境下的反應嗎？接著，探討菌的上清液(代謝物)對逆境下的植物影響。

1. 代謝物對外部生長影響

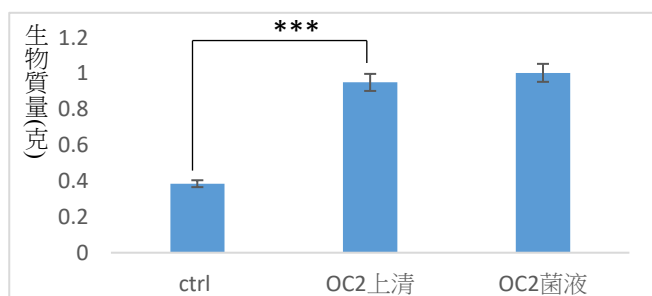


圖 31a 2%鹽逆境，不同添加對生物質量影響

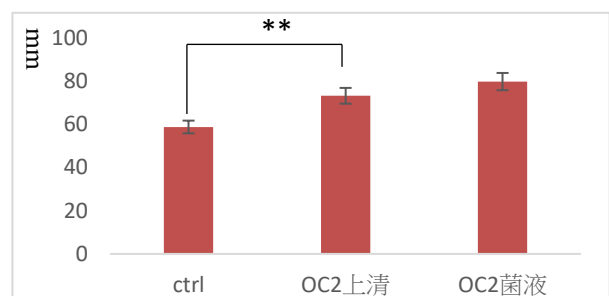


圖 31b 2%鹽逆境，不同添加對根長影響

結果方面，菌的代謝物(上清液)與 ctrl 相比，均達到顯著差異，而上清液與菌液相較則未達顯著差異 ($p > .05$)。顯示耐鹽菌能利用代謝物來促進植物在鹽逆境下的生長。

2. 代謝物對內部抗氧化物質影響

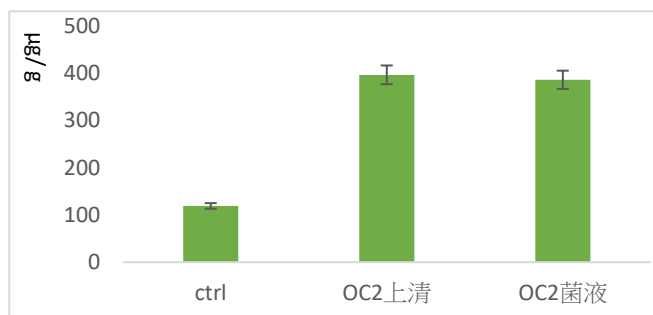


圖 31c 2%鹽逆境，不同添加對類胡蘿素影響

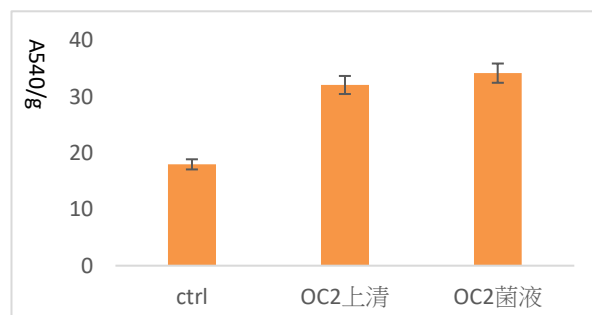


圖 31d 2%鹽逆境，不同添加對類黃酮影響

內部物質的部分，與外部生長情形結果相似，菌的代謝物能促進植物產生較多的抗氧化物質，而上清液與菌液組之間並未達到顯著差異 p 值均 $>.05$ 。

(三)菌代謝物中的可能化學成份

耐鹽菌 OC2 能藉由代謝物與植物溝通，促進植物在鹽逆境下的生長。鹽逆境下，菌促進植物的根長較好，而根部的生長與生長激素 IAA 有關，OC2 能產生 IAA 嗎？我們假定耐鹽菌的代謝物可能含有 IAA。

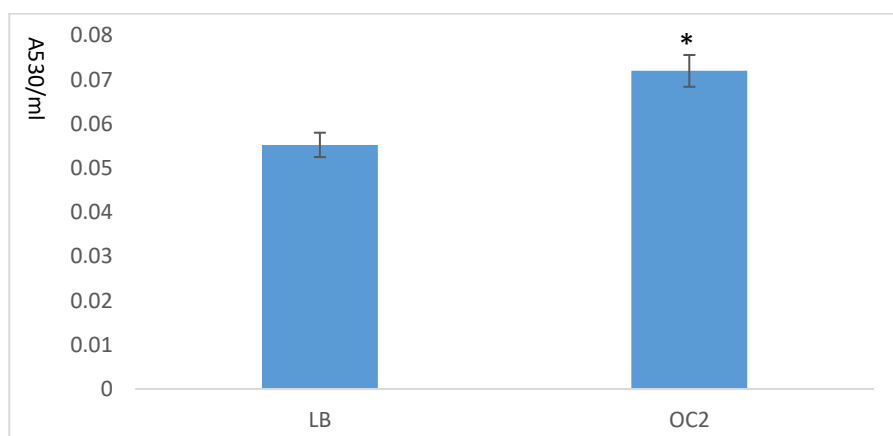


圖 32a 2%鹽逆境，耐鹽菌代謝物的 IAA 含量

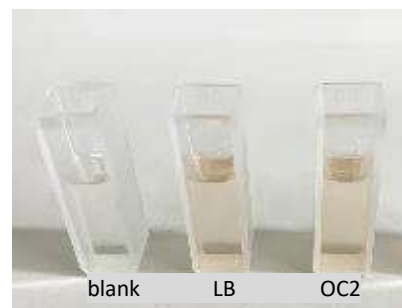


圖 32b IAA 含量比較

菌是以 LB 液態培養基培養，為確認菌的代謝物所含有的 IAA 是由菌產生，而不是 LB 所造成的，我們將 LB 設為控制組比較。結果顯示，OC2 的確會產生 IAA，與 LB 相比，達非常顯著差異 ($p < .05$)，耐鹽菌產生的 IAA 含量約為 LB 的 1.31 倍，藉由代謝物中的 IAA 來促進植物在鹽逆境下的生長情形。

(四)鹽逆境下的根與菌的 IAA 分泌

菌與植物共同存在時，菌能促進植物自身的抗鹽能力提升，也藉由代謝物的 IAA 對植物產生影響，這些都是菌對植物單方面的作用，那麼，植物對菌呢？

在逆境下，植物會對菌有什麼樣的影響嗎？我們試著利用鹽逆境下的根萃取液加入菌液中，探討菌的 IAA 含量是否有所不同。

1. 鹽逆境下根萃取液與菌的 IAA

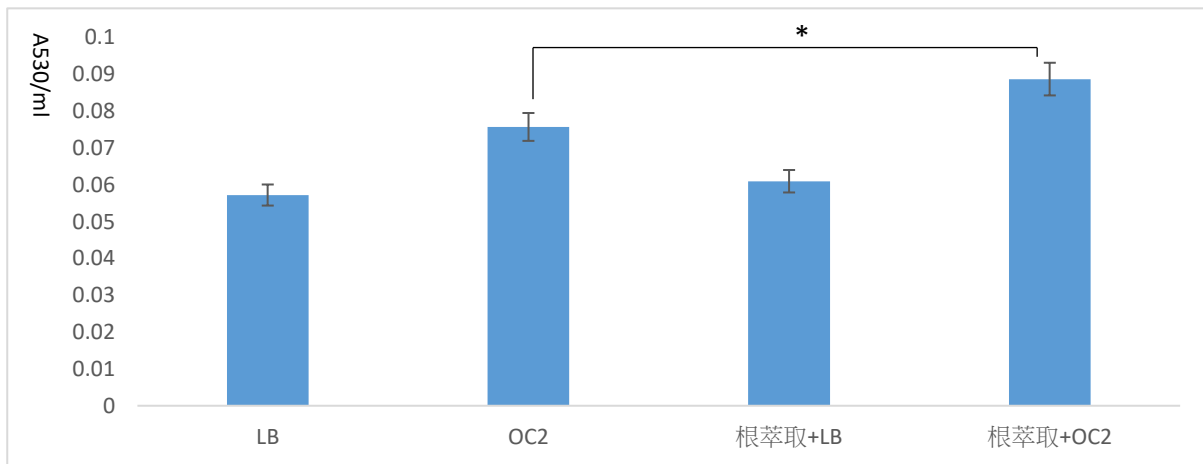


圖 33a 2%鹽逆境下，不同條件的 IAA 含量比較

為釐清逆境下的根萃取液+OC2 組別的 IAA 含量，並非由根部本身所影響，我們也量測了根萃取液+LB 的 IAA 以作為比較。結果顯示，逆境下的根萃取+OC2 與 OC2 之 OD 值分別為 0.075 與 0.088， $p < .05$ 達顯著差異，在逆境下的根萃取液，含有能促進耐鹽菌產生較多 IAA 的成份。此外，根是在鹽逆境下，才會與菌進行溝通，還是在非逆境之下即會促進耐鹽菌產生更多的 IAA 呢？我們比較了淡水 0%及 2%鹽逆境下根萃取對菌的影響。

2. 不同鹽度下，根萃取液與菌的 IAA

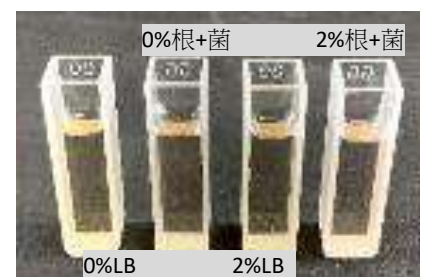
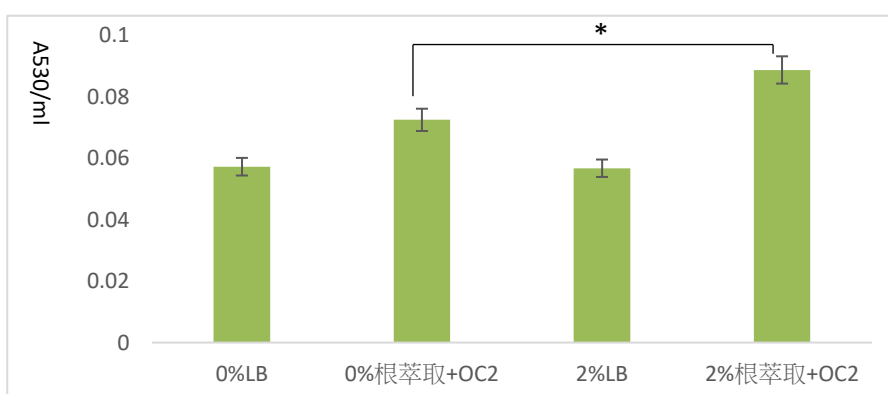


圖 33c 不同鹽度之 IAA 比較

圖 33b 不同鹽度下，根萃取液對菌產生 IAA 的比較

結果顯示，2%鹽逆境下的根萃取液與 0%相比，達顯著差異($p < .05$)，這意味著植物在逆境時，會藉由化學物質來與菌進行溝通，促進 OC2 產生更多的 IAA，來協助植物本身在逆境下的生長。

五、植物與耐鹽菌間的向性與共生關係

研究四的結果顯示，在鹽逆境下，植物會與耐鹽菌進行交互溝通影響，植物分泌未知物質促進耐鹽菌 OC2 產生有益的代謝物 IAA 回饋給根，那麼根在生長方面會趨向具有耐鹽菌的土壤嗎？根系在土壤中的分佈，會不會與菌之間具有相互的吸引力。

此外，菌對植物的影響可由分泌的代謝物促進，除了化學物質之外，菌是否直接進入根部，菌與根部似乎建立了特別的共生關係，植物會對菌有什麼樣的益處呢？

(一)植物根對菌的向性生長

1. 含耐鹽菌土的支根數

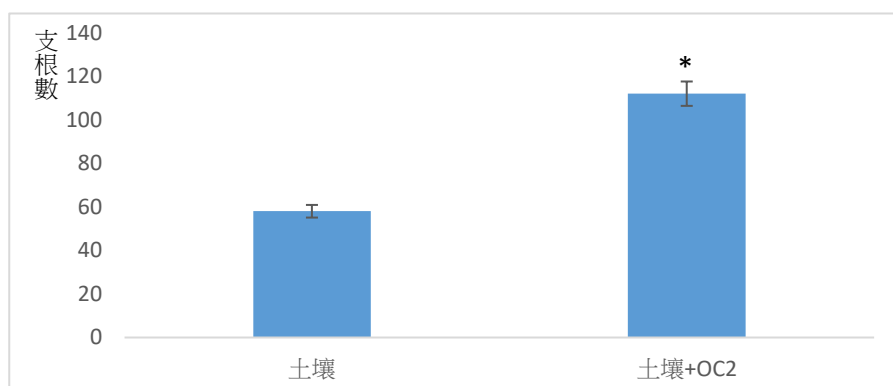


圖 34b 有無含菌之支根數

圖 34a 0%環境下，有無菌的土壤內支根數比較

菌對根部向性影響方面，單純土壤與加菌的支根數均值，分別為 58 與 112，達顯著差異($p < .05$)，顯示根在生長時會趨向有菌的土壤，形成更多的支根數。

2. 含耐鹽菌土的根重量

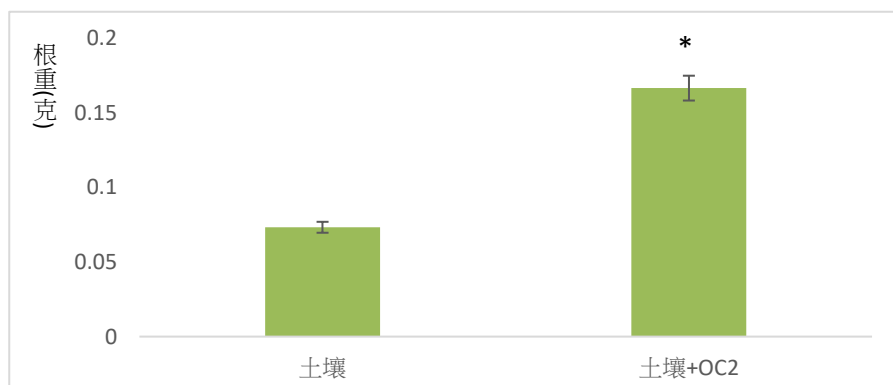


圖 34d 有無含菌之根重比較

圖 34c 0%環境下，有無菌的土壤內根重比較

根重的比較上，單純土壤與加菌的重量，分別為 0.07 及 0.16g， $p < .05$ 達顯著差異，具有含菌土壤的根重約為單純土壤的 2.27 倍。顯示植物與菌之間建立了緊密的關係，根具有趨向含菌土的向性。

(二)耐鹽菌是否進入根部

耐鹽菌與植物間具有交互影響，菌對植物影響的方式，除了藉由分泌的化學物質造成之外，菌會直接住進根部協助植物對抗鹽逆境？

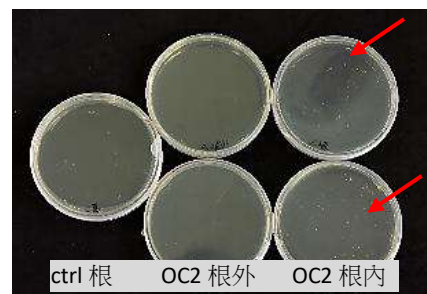


圖 35b 莧菜根內菌落培養情形

圖 35a 鹽度 12%LB 培養基，不同位置根部菌落生長比較

為了釐清根內培養出來的菌是否為其它的細菌，我們以高鹽培養基(12%)，並且與無加菌的 ctrl 組進行比較，再設立滅菌過的根外組進行對照。

培養結果顯示，添加 OC2 的加菌根外組或是 ctrl 組的根內，都無法培養出細菌，顯示根外的細菌被滅菌完全，而 ctrl 的根內組則無細菌可在 12%鹽度下的培養基生存。添加耐鹽菌的根內，可培養出耐高鹽度的細菌，初步比對外觀型態，與 OC2 菌落相似。

植物與耐鹽菌交互影響，除了藉由菌的代謝物之外，也可能直接進入根部來進行協助。

(三)菌對根內物質~澱粉酶活性影響

耐鹽菌能協助植物對抗鹽逆境，那麼植物對菌的益處可能是什麼？在研究二的菌對植物影響實驗中，發現添加菌的組別根較粗，也觀察到加菌組的根橫切似乎澱粉粒明顯較少，這會與澱粉酶的活性有關嗎？

1. 逆境下，根內澱粉粒的分佈比較

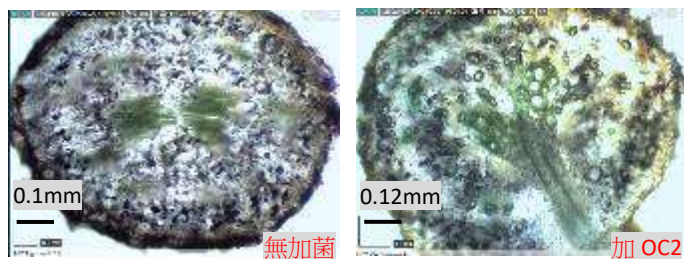
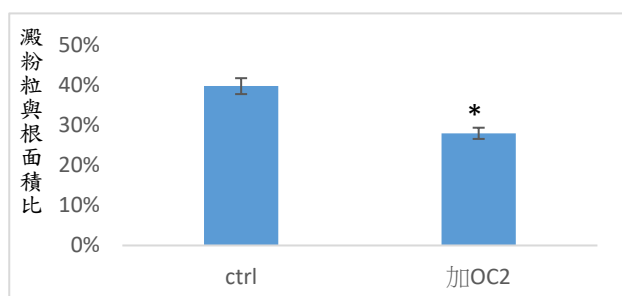


圖 36b 有無加菌之澱粉粒分佈差異

圖 36a 2%鹽逆境，加菌對根澱粉粒分佈比

無加菌與加 OC2 組的澱粉粒分佈比上，分別為 39.8、27.9%，達顯著差異($p < .05$)，加菌組的澱粉粒分佈明顯較少，可能與加菌後的根內澱粉酶活性升高有關。

2. 耐鹽菌對根內的澱粉酶活性影響

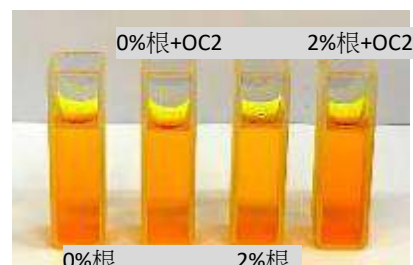
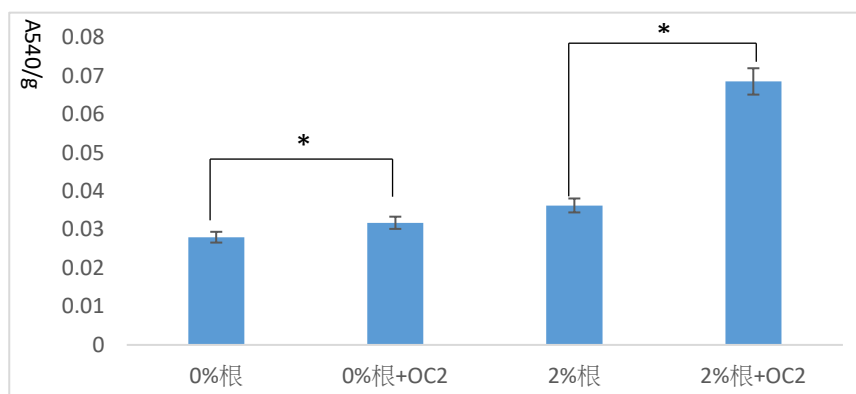


圖 36d 不同條件 DNS 結果

圖 36c 不同鹽度下，根內澱粉酶活性的比較

在不同鹽度下，添加耐鹽菌與無加菌的組別相比，均達到顯著差異($p < .05$)，且在 2% 鹽逆境下的 OC2 組，澱粉酶活性較無加菌組增加了 88%。顯示了耐鹽菌的確能促進植物根部澱粉酶活性上升。

逆境下的澱粉酶活性升高，可溶性糖類增加，一方面協助提升根的滲透壓，另一方面可提供菌碳源，增加的糖類可成為菌的養分來源之一。植物與耐鹽菌之間建立了特殊的共生關係，耐鹽菌協助植物抵抗鹽逆境，而植物提供根內空間與糖類給予回饋。

陸、討論

台灣西部沿海，長期以來都面臨鹽化問題，由於超抽地下水、海水入侵等，導致鹽化面積日益擴大。鹽害的土壤，造成植物根部脫水，導致植物無法生存。根據鄧書麟(2006)指出，台灣鹽土面積約有 5 萬 3 千多公頃，佔可耕種土地約 5.8%，鹽化造成農作物種植及種類的限制，甚至無法耕種。



圖 37 濕地微生物，對抗鹽害？

近年，微生物與其它生物的交互作用逐漸被重視，黃介辰於 2012 年開始透過植物防疫科技計劃，將植物內共生菌應用於對香蕉黃葉病保護上；邱莉文(2017)也於台灣農學會報發表接種水稻根圈細菌對台梗九號水稻秧苗具鹽逆境緩解效果，這都顯示了土壤中的益生菌對於植物的益生能力。中都濕地的紅樹林，具有潮汐變化大的特質，存活於濕地環境的微生物，應具有忍受鹽度變化的能力，而國內較少提及濕地土壤微生物的相關研究，因此我們分離純化海茄苳根系週遭土壤內微生物，並進一步討論對農作物莧菜的耐鹽能力，接著發現菌與作物根系間具有微妙的交互作用，但仍有一些疑問存在，以下針對我們的研究進行討論：

一、篩選濕地土壤內的耐鹽菌

1904 年德國微生物學家提出在植物的根際附近(40mm 以內範圍)，生長著許多微生物，這些土壤微生物與根之間關係緊密。洪子淵(2018)也指出，根部產生的物質可能影響周圍土壤微生物的族群變化，張珮君(2019)的科技部計畫也指出分離自根表面、土壤的細菌，具促進植物生長效果。因此，我們在取樣方面，以海茄苳的主根、氣生根附近的土壤為主。

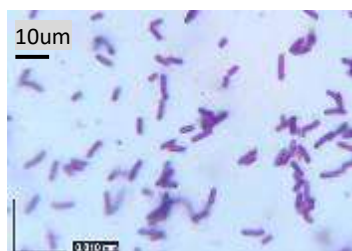


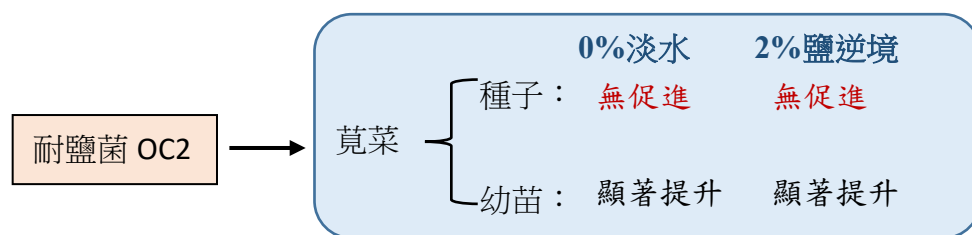
圖 38 濕地耐鹽菌 OC2

篩選純化的菌種 OC2，為大洋芽胞桿菌屬(Biosafety level 1)，可能為新種菌，於細菌多樣性網站(BacDive)中，此屬的菌目前約有 42 種細菌被命名。Deepalaxmi(2018)發表同為大洋芽胞桿菌屬的 *Oceanobacillus oncorhynchi* Yumoto et al. 2005，具

有促進植物生長效果，能作為生物肥料使用，但未提及能協助作物抵抗鹽害。我們取樣的濕地鹽度約在 3~5%之間，篩選的 OC2 具有廣鹽的生存範圍(0~15%)，但於 12%鹽度時生長緩慢(培養 48 小時出現菌落)，而作物遭遇鹽害環境多在 3%以下，篩選的 OC2 在接近 2~3%時的生長情形良好，適合作為鹽逆境下的益生菌測試。

二、耐鹽菌顯著提升植物的耐鹽能力

耐鹽菌 OC2 對作物耐鹽影響方面，對於種子及幼苗有不同的結果，整理如下：



(一)種子發芽率：

耐鹽菌 OC2 無法提升種子的發芽率，這與郭哲甫(2018)指出木黴菌能於 0.5%鹽逆境下，提升蕃茄種子發芽率(提高 34%)；張珮君(2019)自行分離的耐鹽菌，能提升 0.5%鹽逆境下的水稻發芽率，結果不同。我們推測可能是 *Oceanobacillus* 屬的菌種本身特性問題，或是莧科種子無法被 OC2 協助於逆境下發芽，而其它不同科的種子則可以，可能還要進行測試，較能釐清 OC2 對種子發芽的影響。

(二)作物影響上：

OC2 確實能夠提升作物抗鹽力，這與張珮君(2019)指出耐鹽菌能提升水稻芽在鹽害下的生長，以及郭丞恩(2022)分離自堆肥的菌種，提升萵苣在 1%鹽下的生物質量相符。值得一提的是，文獻提及的益生菌對作物抗鹽提升，鹽度介於 0.5~1%，而濕地篩選 OC2 耐鹽菌，則具有接近海水鹽度(3%)的協助抗逆力，推測是由於 OC2 原生環境鹽度變化較大有關。

此外，耐鹽菌 OC2 也具有能促進根毛增加的能力，高鹽環境的高滲透壓，會使得植物吸水及養分困難，根毛數量的增加，提供根更多的吸水機會，巴洛克(2017)關於小米耐鹽的報告也指出，小米較水稻更耐鹽，與根毛數量差異有關。

三、耐鹽菌對植物周圍土壤電解質的影響

鹽逆境下，添加耐鹽菌 OC2 的植物明顯生長較好，我們量測接觸根的周圍土壤 EC 值，以了解菌是否能降解電解質，協助植物緩解鹽逆境壓力。原先假定濕地耐鹽菌可能具有降解環境電解質能力，一方面能提升作物耐鹽能力，另一方面就是解決土壤鹽害，以達到淨土壤淨化與復原，但結果令人訝異。

	菌+鹽土	菌+植物+鹽土
EC 變化	無顯著差異	降約 12.4%

單純菌加鹽土，雖然 EC 值有下降，但仍未達顯著差異，而在種植作物的盆栽，菌卻有降解電解質的能力，推測可能與促進作物吸附較多的鹽類有關，但進一步實驗發現，植物本身並不會吸收更多的鹽類，也就是說下降的鹽僅被菌所吸附，但為何在有植物的情況下，菌才會降解土壤中的鹽，最有可能是因為植物於逆境時，根會分泌化學訊號，啟動菌的吸鹽機轉或是相關的離子通道，但詳細的機制，需再設計實驗討論。

接著，後續的實驗發現，OC2 能進入植物根部，若菌能吸鹽又共生在植物體內，為何植物體內鹽分不會上升？研究過程中也發現菌的代謝物能夠影響作物，也就是代表不用進入作物體內也能進行影響，只是有部分菌會進入作物體內。這與植物共生方能降解土壤電解質的結果，與曲發斌(2015)研究有所不同，其研究的土壤耐鹽微生物於液態培養基之降鹽率達到 45%。而我們的研究結果，也暗示了 OC2 與根部具有特殊的交互作用。

四、植物與耐鹽菌間透過化學物質交互溝通影響

(一) 提升作物自身抗鹽能力的可能

鹽逆境除了對根部造成脫水現象之外，也會造成大量活性氧分子，植物會藉由具有抗氧化能力的代謝物清除。研究發現 OC2，在淡水 0%或是高鹽 3%的環境，皆能促進植物顯著提升體內的抗氧化物質，這與郭丞恩(2022)由堆肥菌種，提升鹽逆境下萵苣的酚類抗氧化物質結果相似。根在鹽逆境下，為避免脫水及增加吸水，會累積根內胺基酸或可溶性糖類，以平衡根內外滲透壓，在我們的研究中，發現 OC2 會促進根內脯胺酸的含量增加，也在後續的實驗發現加菌組的根內澱粉粒較少，增加的可溶性糖類與胺基酸，皆能同時協助根抗逆。

(二) 菌與根的交互作用

菌會影響作物的抗鹽能力，表示菌與根之間可能存在著互動，互動的模式分為代謝物影響、進入根部、進入根部並以代謝物影響。代謝物部分，確實含有促進作物抗逆的化學成份，研究結果顯示 OC2 能產生 IAA，而在逆境下的根萃取液則具有刺激 OC2 產生更多 IAA 回饋給根，那麼逆境下的根是以什麼樣的化學物質促進 OC2 產生更多 IAA 呢？我們也試著討論根對菌的訊號可能。

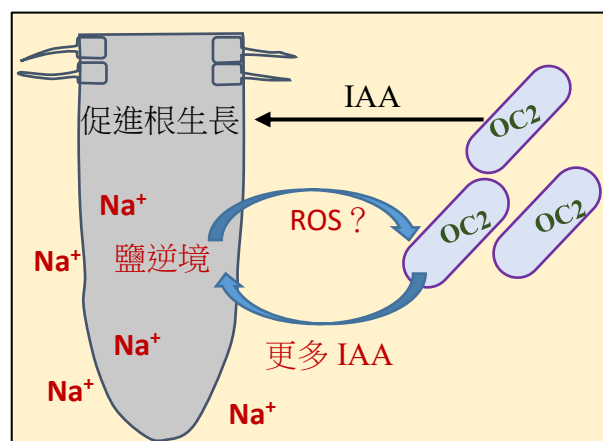


圖 39a 植物根與菌的可能溝通模式

植物在逆境下會產生大量的活性氧化子(ROS)，而這些 ROS 會不會給 OC2 訊號，促進 OC2 的分泌增加？實驗(圖 39b)發現，以 1mM、10mM 的 H_2O_2 模擬 ROS，加入菌液後，並未產生更多的 IAA，但這也不完全排除 ROS 不會是促進 OC2 的訊號來源，可能更高濃度的 ROS 或是 ROS 參與了促進產生 IAA 的其它路徑，不過這也意味著根在逆境下，有可能也有其它的物質參與促進耐鹽菌。

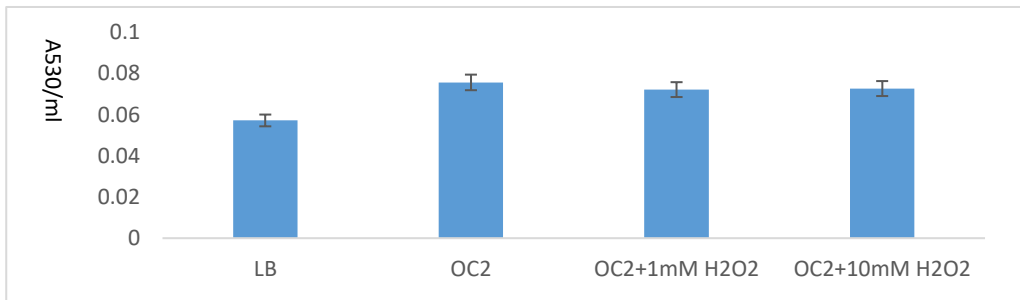


圖 39b 不同濃度 H_2O_2 對菌產生 IAA 的影響

五、植物與耐鹽菌間的向性與共生關係

(一)作物根傾向有菌的土壤生長

植物具有朝向或背離刺激源的特性，我們發現菌與根之間存在著特殊關係，因此進行根的向性實驗，也發現了根明顯朝向含菌土壤處生長，這可能與耐鹽菌 OC2 能產生 IAA 有關，產生的 IAA 具有促進植物生長效果，因此吸引根前來，並獲得菌產生的 IAA。

(二)IAA 促進還是抑制？

生長激素 IAA 對植物的根部而言，具有促進效果，但在較高濃度的狀況下反而會抑制根部生長，Deepak Kumar(2024)針對 PGPR 根際圈益生菌的調節機制研究指出，益生菌會產生 ACC deaminase，將根部過多 IAA 形成的 ACC(乙烯前趨物)，轉換降解形成氨，OC2 也可能有這條路徑，也就是植物在鹽逆境下誘發 OC2 產生較多的 IAA，但同時也可能利用 ACC deaminase 降解了過多 IAA 形成的不利生長物質 ACC。

(三)根內共生現象？

除了代謝物影響作物之外，OC2 是否會進入根部共生，在我們的研究中發現 OC2 可能進入根部共生(圖)，也嘗試利用 DAB 染色法，試著找尋共生直接證據，但目前還未有結果，而 Ling-Ling Yang(2016)針對雲南七葉一枝花的研究中，亦從其根內分離出 *Oceanobacillus* 屬的菌種，顯示同為此屬的 OC2 亦有共生的可能。

(四)植物與菌的共生

耐鹽菌 OC2 於海茄苳根附近土壤所取樣，而在研究中發現會與莧菜根部建立特殊共生關係，顯示此菌種具有泛宿主性，能與不同宿主建立共生，這類型的細菌在自然界中相當普遍，能在多種作物的內部組織中定殖，並促進作物生長或提升抗逆能力。

耐鹽菌 OC2 能利用代謝物及進入根部影響，並於植物遭受鹽逆境時，在根的訊號刺激下產生更多的 IAA 給 OC2，那麼特殊的共生現象，植物的根對菌有什麼樣的關係？鹽逆境下的根橫切，發現了有無加菌，會造成澱粉粒的顯著差異，也由實驗證實了添加菌的組別澱粉酶的活性顯著上升，使得可溶性糖類增加，這些增加的糖類除了與脯胺酸共同增加根內的滲透壓之外，增加的糖類會不會也能供應給菌作為碳源呢？

吳羽婷(2018)在菌根菌與土壤細菌交互作用文章指出，菌根菌感染植物根部後，菌絲會協助根系發展，而宿主植物則提供碳水化合物給菌根菌，這也說明 OC2 與植物根之間的共生類似關係，鹽逆境下澱粉酶的活性增加，導致可溶性糖類增加(圖 40a)，提供 OC2 碳源，進而使得 OC2 菌數增加，產生更多的 IAA 回饋給逆境下的根。

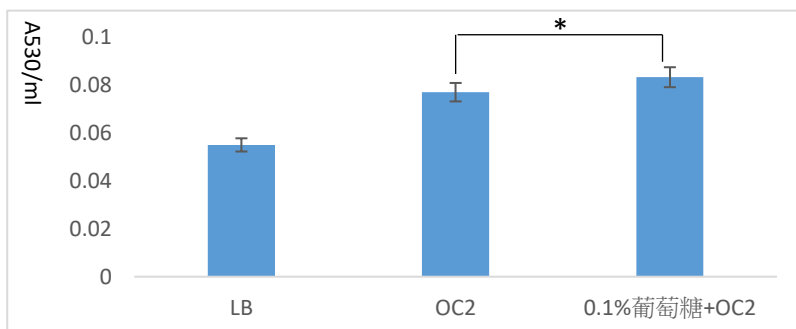


圖 40a 外加碳源對 OC2 產生 IAA 的影響

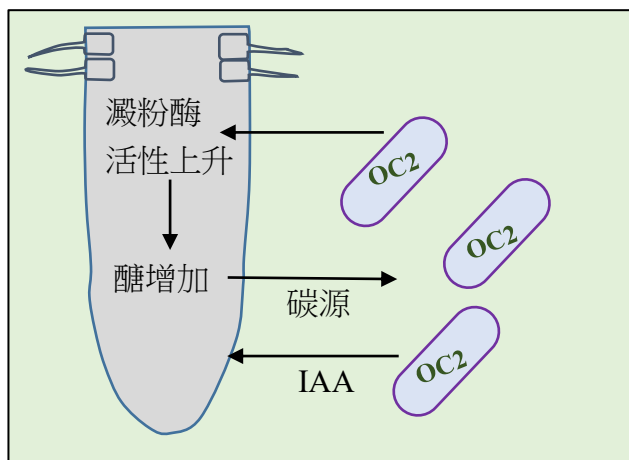


圖 40b 植物與菌之間可能的共生關係示意圖

柒、結論

植物與土壤內的微生物，常建立了微妙的共生關係。這些微生物有不同屬性的菌種，也有能適應各種不同極端環境的菌種。我們在濕地篩選出來的耐高鹽菌(*Oceanobacillus sp.*)，暫定命名為 OC2，並以莧菜作為測試對象，以了解耐鹽菌是否有協助作物提升耐鹽能力的可能。除了發現能顯著提升植物耐鹽能力之外，並進一步發現植物與菌之間建立了特殊的共生關係，我們的研究成果，除了展示了新種耐鹽菌與植物的交互作用，也提供鹽土壤種植的參考，並期待菌對鹽土有淨化改善功能，以下是我們依實驗結果的數點結論：

一、篩選濕地的耐鹽菌

1. 由紅樹林濕地篩選的耐鹽菌種，定序結果顯示為 *Oceanobacillus sp.*，為大洋芽胞桿菌屬，且有可能為新種。
2. 後續的培養實驗證實，耐鹽菌能適應 0~15%環境，具有廣鹽性。

二、耐鹽菌顯著提升作物的耐鹽能力

1. 對作物耐鹽方面，OC2 無法提升鹽逆境下的種子發芽率。
2. 對於鹽逆境下的幼苗，則具生長促進效果，包含根長、根毛數、生物質量與葉面積皆具顯著差異，且在 0%淡水環境下也具顯著促進效果。

三、耐鹽菌對作物周圍土壤電解質的影響

1. 耐鹽菌單獨與鹽土共存時，並無法降解土壤中的電解質。
2. 耐鹽菌與植物共存時，能誘發特殊機轉，促使土壤內的電解質下降 12%。
3. 與菌共存之植物，並不會吸附電解質，顯示土壤的鹽分為耐鹽菌吸收。這也顯示菌與植物之間存在著特殊交互作用。

四、作物與耐鹽菌間透過化學物質交互溝通影響

1. 鹽逆境下，耐鹽菌分泌刺激植物，使葉內的抗氧化物質(類胡蘿蔔素、類黃酮)含量顯著提升，分別為 ctrl 組的 2.70 及 1.89 倍；根部方面，則會刺激植物合成脯胺酸，增加達 98.5%以提升根部滲透壓。
2. 菌的代謝物即能促進植物的耐鹽能力，包含外部型態的生物質量、根長以及內部物質的類黃酮及類胡蘿蔔素等，均有顯著的提升。

3. 耐鹽菌 OC2 能產生 IAA 對植物造成影響，此外鹽逆境下的根萃取液，會誘發耐鹽菌增加約 17% 的 IAA 產量，藉以刺激植物根系發展以利水分吸收。
4. 鹽逆境的根萃取液與淡水 0% 環境下的根萃取液，對耐鹽菌產生的 IAA 含量，達顯著差異($p < .05$)，顯示鹽逆境下的根具有誘發耐鹽菌能力。

五、作物與耐鹽菌間的向性與共生關係

1. 根對菌的向性實驗，含菌土壤內的支根數及根重，均顯著大於控制組，顯示根會趨向具有耐鹽菌的土壤。
2. 添加耐鹽菌的植物根內，可培養出耐高鹽度(12%)的細菌，顯示菌可存在於根部。
3. 根內澱粉粒的比較，加菌的根與控制組相比分別為 28%、40%，進一步利用 DNS 測試澱粉酶活性，顯示耐鹽菌會促進根部澱粉酶的活性，增加達 88%，分解澱粉以產生可溶性糖類供 OC2 使用。菌與植物間可能存在互利共生關係。

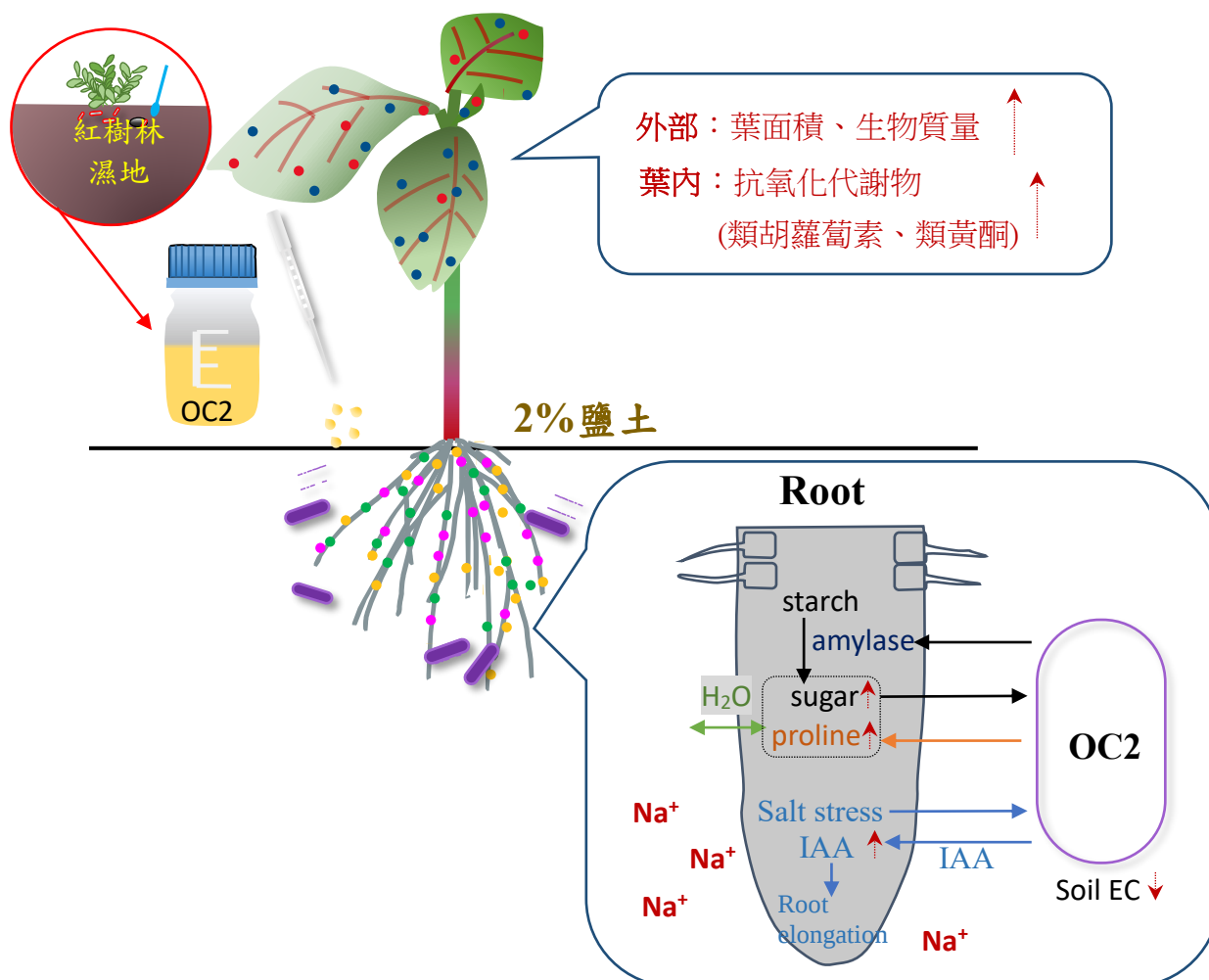


圖 41 耐鹽菌對植物的影響與交互作用示意圖

捌、其它

一、照片及圖片來源說明：

本研究所有照片及圖片均為作者親自拍攝及繪製。

二、參考資料

1. 黃皓瑄(2021)。植物內生菌 *Burkholderia seminalis* 869T2 可促進阿拉伯芥、青江菜、小白菜、萵苣、莧菜等作物生長。 *Microorganisms* , 9(8), 1703。
2. 張珮君、徐睿良(2019)。耐鹽植物益生菌之篩選以提升鹽地農用。國科會計畫。
3. 邱莉文(2017)。利用根圈益生菌提升台梗九號水稻秧苗對鹽逆境的耐受性。台灣農學會報 18 卷 3&4 期。
4. 鄧書麟(2006)。台灣濱海鹽溼地造林技術與適生樹種調查。台灣林業專刊 Vol.32 No.1 6.
5. 郭哲甫(2018)。耐熱耐鹽的木黴菌株之篩選與特性分析。國立虎尾科技大學生物科技所學位論文
6. 宋英平、吳羽婷(2018)。菌根菌與土壤細菌間之交互作用林業研究季刊 40(4)：277-287
7. 楊茜雯、巴洛克、陳奕婷(2015)。養我育我的部落勇士-探討小米的生存之密。中華民國第 55 屆中小學科學展覽作品。
8. 曲發斌(2015)。鹽生植物根際耐鹽鹼微生物的篩選及其降解特性。貴州農業科學, 2015, 43(3): 121-124.
9. Deepalaxmi. R.K, Gayathri.C (2018). Screening of Halophilic Microorganisms (*Oceanobacillus Onchorhynchi* and *Pseudomonas Stutzeri*) for the Effect of Plant Growth Promotion and Its Formulation as a Biofertilizer SSRG International Journal of Agriculture & Environment Science (SSRG-IJAES) - Vol5 Issue 2.
10. Kumar, D., Ali, M., Sharma, N. *et al* (2024). Unboxing PGPR-mediated management of abiotic stress and environmental cleanup: what lies inside?. *Environ Sci Pollut Res* **31**, 47423–47460.
11. Yang LL, Tang SK, Chu X, Jiang Z, Xu LH, Zhi XY (2016). *Oceanobacillus endoradicis* sp. nov., an endophytic bacterial species isolated from the root of *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2016 Jul;109(7):957-64. doi: 10.1007/s10482-016-0695-4. Epub 2016 Apr 8. PMID: 27059624.

【評語】 060013

1. 本研究在對濕地耐鹽菌對植物耐鹽及根部的交互作用進行探討。

研究發現新種的耐鹽菌 *Oceanobacillus* sp.，OC2，在無植物相伴狀態下不會降低土壤含鹽量，但在與植物共存的特殊交互作用下，會促使土壤含鹽量降低約 12.4%，並提升植物的耐鹽能力。進一步發現植物在鹽逆境下分泌的化學物質會促進 OC2 產生更多的 IAA，藉以刺激植物根系發展以利水分吸收。

2. 作者研究主題明確、實驗設計及分析方法詳細，具有應用在作物上的價值。
3. 實驗數據相當精確。