

蕁苔屬種子披衣添加生物製劑 對種子活力與苗期病害之影響

Effects of seed coating with biological agents on Brassica seed vigor and seedling disease

黃玉梅¹、林宗俊²、謝奉家³、姚儼修⁴、吳翰儀⁴

一、前言

在臺灣蔬菜幼苗非常容易罹患猝倒病及立枯病，苗期猝倒病由腐黴菌 *Pythium aphanidermatum* 等所引起 (Wang *et al.*, 2002)，腐黴菌為害植物根部或幼苗，當幼苗出土後遭受感染，幼苗莖基部變細、軟化，因無法承受植株重量造成倒伏現象，亦會造成根部腐爛導致植株矮化、生育不良，嚴重時幼苗萎凋後死亡，猝倒病發生以夏、秋高溫潮濕季節最為嚴重；立枯病由立枯絲核菌 *Rhizoctonia solani* 所引起，罹病幼苗莖基部變黑褐色，後期罹病部位隘縮，莖葉萎凋、下垂枯死 (陳與戴，1997；楊等，2012)。針對苗期猝倒病及立枯病，目前仍以施用化學藥劑澆灌土壤、種子處理或噴佈植株等慣行防治方式為主 (余和楊，2011；Hairston, 1991；Dorrance and McClure, 1999；Keiser and Hannan, 1983)。相較於化學農藥，生物製劑對環境影響較少，且對非標的物毒害也較小。生物製劑如：枯草桿菌、木

黴菌等會產生抗生物質，達到減少土壤病原微生物的效果，降低殺菌藥劑使用量 (石等，2006)，木黴菌及枯草桿菌可抑制蕁苔屬病原菌，且部分枯草桿菌菌種可促進豆類根系生長 (Asaka and Shoda, 1996; Araujo *et al.*, 2005; Nzanza *et al.*, 2012; Sivan *et al.*, 1983; Tsahouridou and Thanassouloupoulos, 2002)。另外，幾丁聚醣可誘導植物啟動防禦機制產生大量抗菌物質，有利植物的抗病以及生長作用 (葉，2010)。此外，番茄種子處理幾丁聚醣，可抑制其病原菌感染 (Bautista-Baños *et al.*, 2006; Benhamou and Thériault, 1992; Benhamou *et al.*, 1994)。

運用種子披衣 (seed coating) 處理技術，除了可以改變種子的重量、形狀、大小 (Halmer, 2008) 達到標準化的要求，更方便機械播種外，還可以依農民栽培的需要，在披衣過程中加入殺菌劑、殺蟲劑、營養元素或生長調節劑等活性成分 (Active ingredients)，可有效防治苗期病蟲害及

¹ 種苗改良繁殖場種苗經營課 研究員

² 農業試驗所 助理研究員

³ 農業藥物毒物試驗所 研究員兼組長

⁴ 種苗改良繁殖場種苗經營課 臨時人員

促進幼苗生長 (Rhodes and Nangju, 1979; Silcock and Smith, 1982; Watkins *et al.*, 1996; Bardin *et al.*, 2004)，讓種子具備治病防蟲及促進生長等附加價值。另外，為了增加種子播種的流動性以及避免添加殺菌劑或殺蟲劑的汙染等問題，因此，商業生產會在拌藥或披衣之後，再使用膜衣來處理種子 (Akhtar and Sisken, 1994)。然而，隨著有機概念及對環境友善的重視，在披衣過程中可避免添加化學藥劑，而改添加符合有機及友善耕作的微生物製劑 (如木黴菌、液化澱粉芽孢桿菌) 或生物性材料 (如幾丁聚醣)，來增加作物對生物性逆境的抗性 (Accinelli *et al.*, 2016; Lizárraga-Paulín *et al.*, 2013)，更可減輕對環境的傷害，但添加時仍然必須考量對種子發芽及貯藏壽命是否有不良影響 (Miller and Sooter, 1967)。本研究即透過披衣技術將生物製劑附著於蕁苔屬種子表面，並探討蕁苔屬種子披衣添加生物製劑，對種子活力及苗期防禦能力之影響，達到防治種子萌前或萌後之病害的目的。

二、披衣添加生物製劑對種子活力之影響

本試驗將青花菜‘越秀’、花椰菜‘雪玉’、結球白菜‘瑞星7號’及甘藍‘台中1號’種子，以生物製劑浸種膜衣及披衣添加再膜衣等處理，生物製劑包括：水溶性幾丁聚醣 (Chitosan)、液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) ‘Ba-BPD1’ (農業藥物毒物試驗所提供) 及‘P2-2’及枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)

‘Lnp-1’ (農業試驗所提供) 等，從發芽試驗結果顯示，以‘Lnp-1’、‘P2-2’、‘Ba-BPD1’及幾丁聚醣浸種後膜衣之青花菜、甘藍、結球白菜種子發芽率與對照組無顯著差異，只有花椰菜種子膜衣處理後之發芽率為90%低於對照組的96%，其中又以添加‘Lnp-1’、‘P2-2’浸種膜衣處理組之發芽率顯著低於單純膜衣組，而‘Ba-BPD1’及幾丁聚醣浸種膜衣組則與單純膜衣組無顯著差異 (表一上)；披衣添加生物製劑中，以Ba-BPD1處理在各作物之種子發芽率均顯著低於對照組，而作物別則是甘藍經生物製劑披衣處理後發芽率皆顯著低於對照組 (表一下)。若利用披衣技術將生物製劑附著於種子表面，在種子發芽、出苗過程中達到防治效果，但是，添加時首先必須考量對種子活力是否產生不良影響。

蕁苔屬種子添加生物製劑浸種後膜衣處理，貯藏24個月後發芽試驗結果顯示，各作物之發芽率與對照組無顯著差異 (圖1)，披衣添加Ba-BPD1處理之青花菜、花椰菜及甘藍種子發芽率顯著低於對照組，但添加LnpP-1及P2-2處理之花椰菜種子與對照組無顯著差異。披衣添加3種生物製劑中，以Ba-BPD1處理在供試作物之種子發芽率均顯著低於對照組，而甘藍則是經3種生物製劑披衣處理後發芽率皆顯著低於對照組 (圖2)，進一步以離心機將Ba-BPD1菌液移除二次代謝產物，離心前、後對青花菜及甘藍種子披衣發芽率之影響 (表二)，結果顯示菌液中二次代謝產物可能抑制種子發芽。

研究成果

表一、蕓苔屬種子經生物製劑浸種後膜衣或披衣膜衣處理對發芽率之影響

		青花菜 “越秀”	花椰菜 “雪玉”	甘藍 “台中1號”	結球白菜 “瑞星7號”
種子處理	生物製劑	發芽率 (%)			
浸種後膜衣	CK ^y	85b ^z	96a	97a	100a
	CKF	97a	90b	97a	100a
	Ba-LF	89b	82cd	98a	100a
	Ba-PF	86b	81d	93a	100a
	Ba-BF	88b	85bcd	93a	100a
	CHF	86b	87bc	95a	100a
浸種後披衣膜衣	CK ^x	85 ^z a ^y	96a	97a	100a
	CKC	82a	90b	93a	100a
	Ba-LC	81a	82cd	57b	99ab
	Ba-PC	77a	81d	61b	99ab
	Ba-BC	47b	85bcd	2c	96b
	CHC	76a	87bc	88a	99ab

^z Means (n=4) with the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD at 5% level.

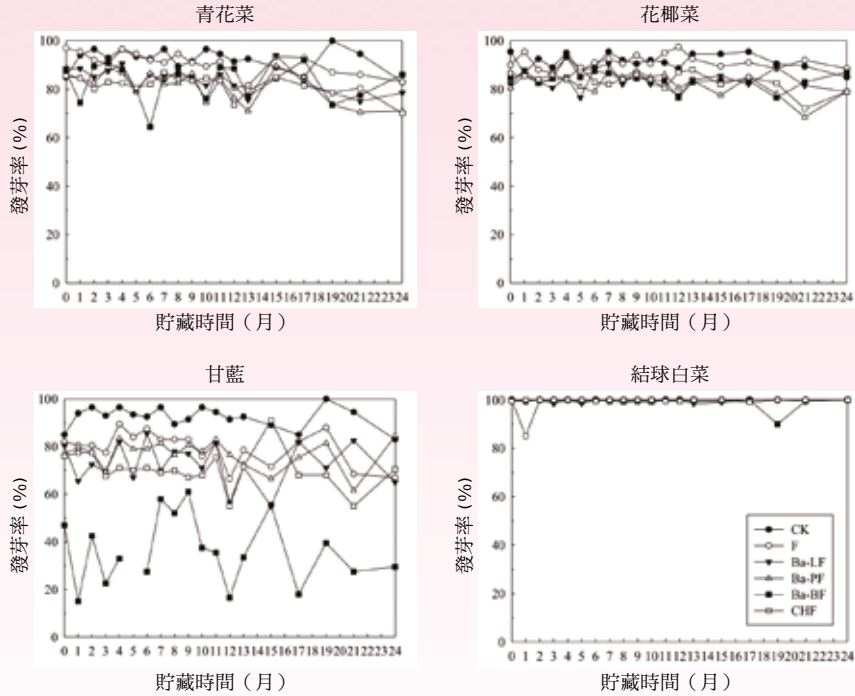
^y CK: control 對照, F: filming treatment 膜衣處理, L: Lnp-1, P: P2-2, B: Ba-BPD1 and CH: chitosan. 幾丁聚醣

^x CK: control 對照, C: coating and filming treatment 披衣及膜衣處理, L: Lnp-1, P: P2-2, B: Ba-BPD1 and CH: chitosan. 幾丁聚醣

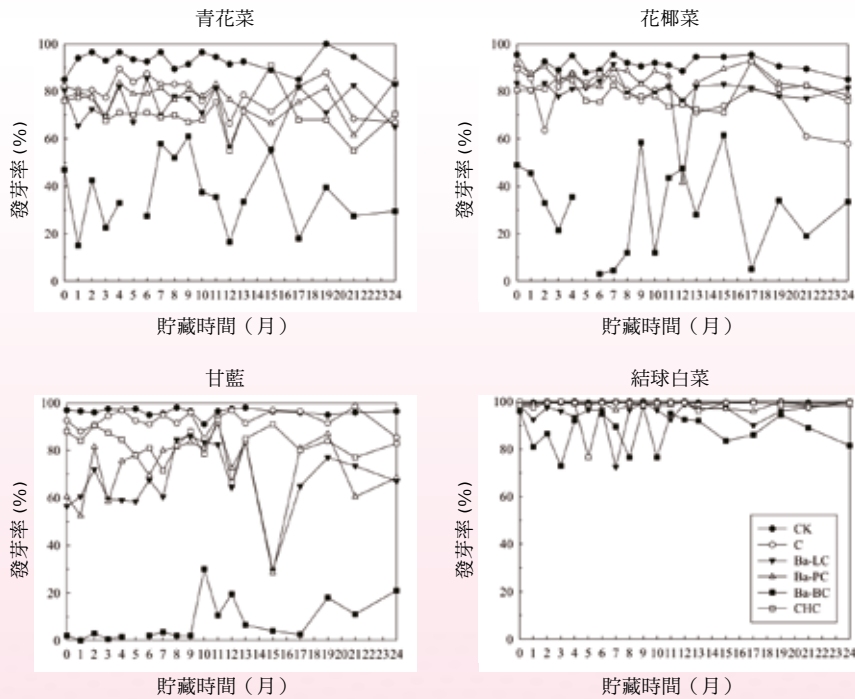
表二、青花菜及甘藍種子披衣添加液化澱粉芽孢桿菌 Ba-BPD1 離心前後菌液對發芽率之影響

	青花菜	甘藍
處理	發芽率 (%)	
CK	92a ^z	95a
菌液離心後	70b	49b
菌液離心前	16c	1c

^z Means(n=4) within the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD at 5% level.



CK: control 對照, F: filming treatment 膜衣處理, L: Lnp-1, P: P2-2, B: Ba-BPD1 and CH: chitosan. 幾丁聚醣
圖 1. 蕈苔屬種子經生物製劑浸種後膜衣處理貯藏 24 個月對發芽率之影響



CK: control 對照, C: coating and filming treatment 披衣及膜衣處理, L: Lnp-1, P: P2-2,
B: Ba-BPD1 and CH: chitosan. 幾丁聚醣

圖 2. 蕈苔屬種子經生物製劑浸種後披衣及膜衣處理貯藏 24 個月對發芽率之影響

研究成果

三、披衣添加微生物對病原拮抗與菌種活力之影響

拮抗試驗結果顯示，披衣添加液化澱粉芽孢桿菌 Ba-BPD1 處理之蕁苔屬種子可抗立枯絲核菌 *Rhizoctonia solani*，而對腐黴菌 *Pythium* sp. 無拮抗能力。而處理枯草桿菌 Lnp-1、液化澱粉芽孢桿菌 P2-2 之種子可有效抑制 *Rhizoctonia solani* RST04 及 *Pythium papaya* SHPy001 (圖 3)，不同於蕁苔屬種子之 Ba-BPD1 處理只可抑制絲核菌 (RST04)，而對腐黴菌 (SHPy001) 無抑制之效果。從貯藏之活性菌數檢測得知，披衣添加 P2-2、Lnp-1 及 Ba-BPD1 之種子經貯藏 17 個月後，活菌數仍可維持在 4-7 log CFU/seed (圖 4)，相較貯藏前並未明顯降低，顯示經披衣於蕁苔屬種子上貯藏後菌種活性可維持穩定活性，未來如進一步商品化時將具有足夠的儲架壽命。然而為了讓種子裹覆更多菌量，試驗中將生

物製劑包裹於披衣層再披覆於種子表面，從檢測之活性菌數得知確實較只浸種膜衣處理高，每粒種子可維持在 5-7 log CFU/seed (圖 4 圖示為空心者)。

四、披衣添加生物製劑對幼苗出土與罹病之影響

以 128 格穴盤育苗進行苗期試驗結果顯示，簡單以生物製劑浸種膜衣處理之種子出土率普遍較披衣添加生物製劑再膜衣處理者為高，處理對青花菜、結球白菜種子出土率影響較小，但對花椰菜、甘藍影響較大，披衣添加生物製劑再膜衣處理者出土率均顯著低於對照組，且貯藏 20 個月後出土率下降更為明顯，在 40% 以下 (表三)。將供試蕁苔屬種子播種於混有 *R. solani* RST04 之介質中，待幼苗本葉抽出後，將 *Pythium* sp. SHPy001 懸浮液噴灑於蕁苔屬幼苗上，調查罹病率顯示受氣候

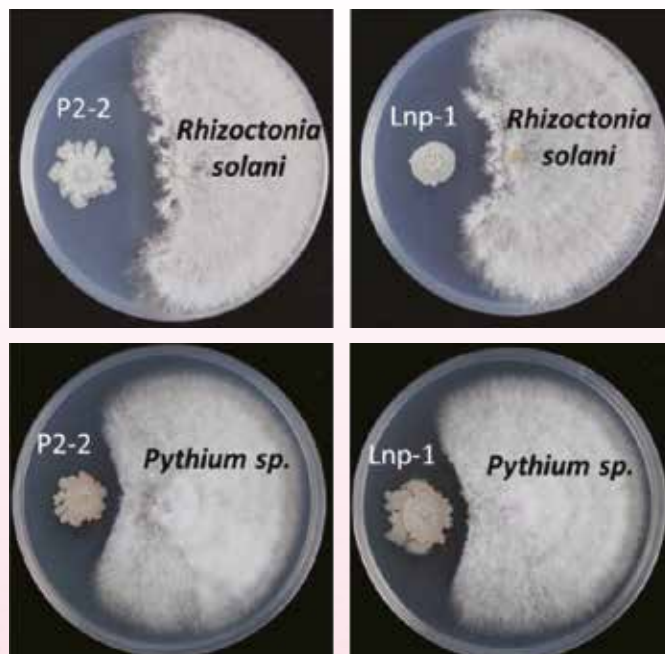
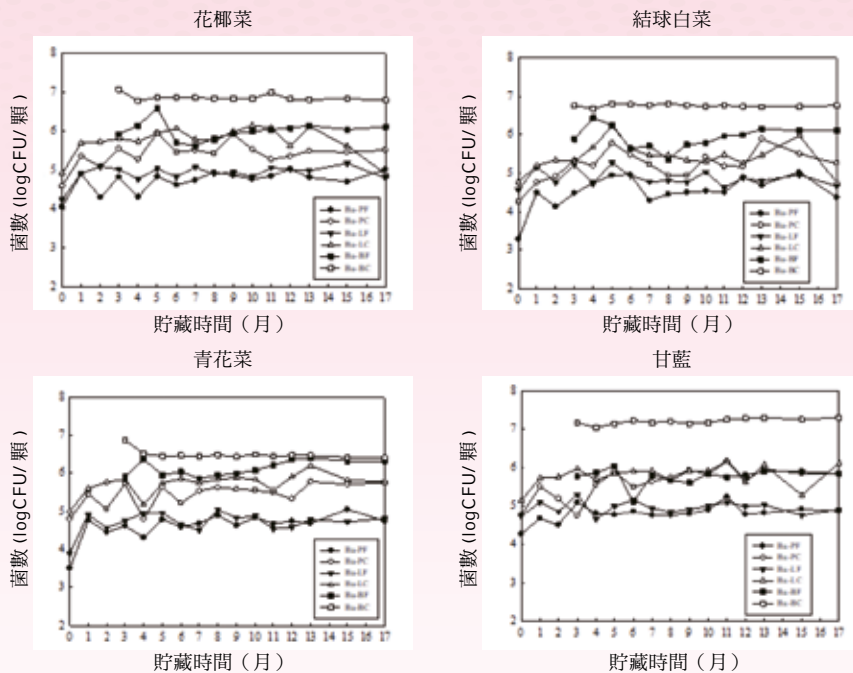


圖 3. 將 *Rhizoctonia solani* RST04 與 *Pythium* sp. SHPY001 於 PNA 培養基分別與 *Bacillus amyloliquefaciens* P2-2 和 *Bacillus subtilis* Lnp-1 進行對峙培養



C: coating and filming treatment 披衣及膜衣處理, F: filming treatment 膜衣處理, L: Lnp-1, P: P2-2, B: Ba-BPD1.

圖 4. *Bacillus amyloliquefaciens* P2-2 (Ba-P)、Ba-BPD1 (Ba-B) 及 *Bacillus subtilis* Lnp-1 (Ba-L) 膜衣 (F) 及披衣 (C) 種子貯藏 17 個月對活孢子數的影響

表三、蕈苔屬種子經生物製劑浸種後披衣或披衣膜衣處理對出土率的影響

作物別品種		青花菜“越秀”		花椰菜“雪玉”		甘藍“台中 1 號”		結球白菜“瑞星 7 號”	
貯藏時間 播種日期	0 個月	20 個月	0 個月	20 個月	0 個月	20 個月	0 個月	20 個月	
	106/5/4	107/12/25	106/5/4	107/12/25	106/5/4	107/12/25	106/5/4	107/12/25	
處理		出土率 (%)							
浸種後膜衣	CK ^x	52 ^z a ^y	72ab	77a	71ab	78a	79ab	85b	83b
	CKF	60a	85a	75ab	75ab	78a	79ab	83b	89ab
	Ba-LF	61a	59b	68abc	65b	66b	74b	83b	96a
	Ba-PF	60a	58b	58c	60b	78a	70b	91ab	92ab
	Ba-BF	61a	72ab	64bc	63b	79a	83ab	95a	85b
	CHF	50a	61b	71ab	83a	83a	90a	86ab	86ab
浸種後披衣膜衣	CK ^w	52a	72a	77a	71a	78a	79a	85a	83ab
	CKC	56a	37b	72ab	34c	68ab	29b	91a	90a
	Ba-LC	57a	30b	62c	49bc	34c	15bc	91a	90a
	Ba-PC	51a	43b	68bc	49bc	21c	5c	87a	90a
	Ba-BC	54a	35b	52d	46bc	53b	9c	88a	76ab
	CHC	46a	25b	70b	58ab	33a	26b	90a	62bc

^z Mean (n=4). Means with the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD at 5% level.

^y CK: control 對照, F: filming treatment 膜衣處理, L: Lnp-1, P: P2-2, B: Ba-BPD1 and CH: chitosan. 幾丁聚醣

^x CK: control 對照, C: coating and filming treatment 披衣及膜衣處理, L: Lnp-1, P: P2-2, B: Ba-BPD1 and CH: chitosan. 幾丁聚醣

研究成果

影響，貯藏前 (0 個月) 5 月份播種之罹病率明顯高於貯藏 20 個月後 2 月份播種之幼苗，而以生物製劑浸種膜衣處理之罹病率普遍較披衣添加生物製劑再膜衣處理者為高，可能因披衣再添加生物製劑，提高種子裹覆生物製劑的量，增加了防病能力降低罹病率，且各處理幾乎都以對照組罹病率最高 (表四)。

五、結論

隨著生態保育意識的抬頭，臺灣農業逐漸以對環境友善的方式耕作，本試驗利用具有抗病害之生物製劑，應用於種子造粒技術，且生物製劑中對苗期病害的拮抗微生物經貯藏後仍可穩定存活，讓造粒種子達到機械播種及防苗期病害等優點，增加種子之附加價值。

表四、蕓苔屬種子經生物製劑浸種後膜衣或披衣膜衣處理對罹病率的影響

作物別品種		青花菜“越秀”		花椰菜“雪玉”		甘藍“台中 1 號”		結球白菜“瑞星 7 號”	
貯藏時間 播種日期	處理	0 個月	20 個月	0 個月	20 個月	0 個月	20 個月	0 個月	20 個月
		106/5/4	107/12/25	106/5/4	107/12/25	106/5/4	107/12/25	106/5/4	107/12/25
		罹病率 (%)							
浸種後膜衣	CK ^x	91a ^z a ^y	32ab	63b	42a	65ab	46ab	61ab	8ab
	CKF	89a	21ab	54b	34ab	74ab	53a	54bc	3b
	Ba-LF	65b	19ab	64b	28ab	64ab	30b	90a	13a
	Ba-PF	76ab	40a	55b	36ab	57b	35ab	55bc	7ab
	Ba-BF	75ab	14b	84a	24ab	69ab	34b	58ab	8ab
	CHF	88a	16b	71ab	17b	82a	32b	46c	6ab
浸種後披衣膜衣	CK ^w	91a	32a	63a	42a	65ab	46a	61a	8a
	CKC	69bc	6b	65ab	14cd	68ab	27ab	59a	13a
	Ba-LC	75b	5b	71a	11cd	79a	21b	57a	9a
	Ba-PC	58cd	6b	35b	21bc	29c	27ab	64a	8a
	Ba-BC	54d	7b	62a	5d	57b	12b	50a	28a
	CHC	76b	0b	61a	27a	63ab	10b	47a	15a

^z Mean (n=4). ^y Means with the same letters in a column are not significantly different by Fisher's LSD at 5% level.

^x CK: control 對照, F: filming treatment 膜衣處理, L: Lnp-1, P: P2-2, B: Ba-BPD1 and CH: chitosan. 幾丁聚醣

^w CK: control 對照, C: coating and filming treatment 披衣及膜衣處理, L: Lnp-1, P: P2-2, B: Ba-BPD1 and CH: chitosan. 幾丁聚醣