國立屏東高級中學普通科生物小論文

天然的殺菌劑—木黴菌

學生: 二年14班29號謝易宸撰

指導老師 : 生物老師 林政田

中華民國一一〇年九月

目 次

| 第一章 | 前言 | - 3 |
|-----|--------------|--------------|
| 第一節 | 研究動機 | - 3 |
| 第二節 | 研究方法 | - 3 |
| 第三節 | 研究目標 | - 3 |
| 第二章 | 本文介紹 | - 4 |
| 第一節 | 木黴菌的外觀、屬性、特性 | - 4 |
| 第二節 | 木黴菌的應用 | - 5 |
| 第三章 | 自製培養 | - 6 |
| 第一節 | 研究與設計培養方法 | - 6 |
| 第二節 | 實作過程 | - 6 |
| 第三節 | 過程照片 | - 7 |
| 第四節 | 十週觀察生長過程(表格) | 8∼ 12 |
| 第五節 | 顯微鏡觀察照片 | - 13 |
| 第四章 | 心得與結論 | - 14 |
| 第一節 | 實驗結果與結論 | - 14 |
| 第二節 | 討論改進 | - 15 |
| 第三節 | 心得 | - 16 |
| 第五章 | 附錄 | - 17 |

壹、前言

一 研究動機

台灣一直都擁有相當先進的農業技術,在農漁業生技研發上紮實的基礎, 且由優秀的學研界人才所發表的農業科學相關期刊論文,更在全球具有相當大 的影響力(註1)。但其實在台灣,用農藥來防治蟲害與病菌,是符合大多數農 民的經濟選擇,不過使用農藥等化學的除蟲、除菌藥劑卻會破壞生態的食物 鏈、多樣性,甚至是危害人體的細胞、器官與身體機能等等(註2)。台灣農業 在開發天然除蟲、除菌的技術與方法日新月異,對於微生物有極大信趣的我, 喜歡去研究黴菌與病毒,而在真菌界裡的黴菌當中,木黴菌與青黴菌這兩種黴 菌最令我感興趣。青黴菌是以殺菌作用而聞名於人類的醫學應用;而木黴菌則 是以應用於農業的菌害防制而聞名,而之前對於青黴菌的知識早已在國中而認 知,因此對於剛開始認識與研究的『木黴菌』成為我自主學習研究的對象。

二 研究方法

在108課綱重點就是素養與自我的學習表現,其中自主學習更是不可少的重點。言歸正傳,對於木黴菌的研究與歷史記載,在網路上與圖書館的資料都非常豐富,以網路而言,有:「維基百科」、「農業知識入口網」、「國立自然科學博物館」、「行政院農委會官網」、「農委會農業藥物毒物試驗所」、「相關的論文」等等。圖書館則有眾多書籍有關木黴菌的書籍可以借閱查詢與研究。接著再照著研究而來的方法,買木黴菌的孢子、菌種,親自培養木黴菌,來觀察這十週的變化過程,菌絲的生長過程與孢子的繁殖過程,達到做中學的效果。

三 研究目標

以10週的時間,來觀察與紀錄木黴菌的生長、繁殖過程。用咖啡渣作為木 黴菌的培養基底,對照三組咖啡渣來培養木黴菌,觀察與紀錄兩種不同的基底 對木黴菌的生長、繁殖影響,並做一份研究木黴菌的小論文報告。研究結果以 咖啡渣為培養基底的木黴菌實體成果與一份研究的小論文報告為自主學習的最 終研究成果。

貳、本文介紹

一 木黴菌的外觀、屬性、特性

木黴菌屬(學名:Trichoderma),是一種肉座菌科下的一個屬。木黴菌是環境中常見的黴菌,在土壤、空氣、植物上都可發現它們的存在,潮濕的環境有利於它們生長,如:水溝、農田、森林、草地、土壤、枯枝落葉、發酵物、腐木、球莖表面等植物殘體以及其他真菌的子實體(註3)。生長快速,是腐生性的真菌,菌絲呈無色,分支錯綜複雜,菌落棉絮狀。無性態的木黴菌在產孢子前為白色,產孢子後為綠色。最大特色為超寄生,可入侵其他真菌的菌絲中,與作物的病原真菌結抗。生長迅速可分泌多種酵素,如:纖維分解酵素、幾丁質分解酵素、木質素等。(註4)(註5)但對於真菌性病害有防治效果,但對於細菌性病害則無效果(註6)。

科學分類:

界: 真菌界 (Fungi)

門:子囊菌門 (Ascomycota)

綱: 糞殼菌綱 (Sordariomycetes)

目:肉座菌目 (Hypocreales)

科:肉座菌科 (Hypocreaceae)

屬:木黴菌屬 (Trichoderma)

(註3)

形態特徵:

分生孢子梗—型態直立或微彎,有次級分支。

瓶狀孢子梗—略呈圓錐,長在分生孢子梗兩側、可能是單生或是叢生。

瓶狀孢子—(黃)綠色(橢)圓形,有黏性,單孢單室,集結於瓶梗。

厚膜孢子—透明無色的圓形或卵圓形孢子,其外壁光滑、可能為間生或頂生。 · (註3)

世代的分類:

<u>無性</u>世代:不完全菌門、絲孢綱、叢梗孢目、木黴菌屬。

有性世代:子囊菌門、核菌綱、肉座菌目、肉座菌屬。

(註3)

二 木黴菌的應用

與植物病原菌如絲核病菌(Rhizoctonia)和鎌刀菌(Fusarium)等產生拮抗作用。在土壤中加入木黴菌,可達到防止植物病菌所導致的病害。木黴菌主要在防治鐮胞菌引起的萎凋、根腐病等等。再來,木黴菌在生技應用、紡織業、食品的科學應用、造紙業、飼料等產業,都有相關的研究與應用(註7),如木黴菌的酵素,可軟化布料纖維。在紙漿工業,木黴菌可以加速分解木質纖維,除去油墨,漂白紙漿。食品工業上,協助分離啤酒或果汁中不需要的雜質,讓產品可以更清澈美觀。生技方面上:1製作堆肥,快速分解物質,可以加速堆肥的腐熟過程,並減少臭味的產生。2防治病害或抑制病原的主要機制,其行為通常可歸類成五大類,即產生抗生素、營養競爭、微寄生、細胞壁分解酵素、以及誘導植物產生抗性。3可促進百合、胡瓜、苦瓜、絲瓜、青椒、小白菜、甘藍及康乃馨等植株生長。

(註6)(註8)

主要防治的病菌與植物疾病(表1)

| 木黴菌防治病原之種類 | |
|--|------------|
| 病原 | 土壤病害 |
| 鎌胞菌(Fusarium oxysporum, F.solani,F.colmorum, | 萎凋、根腐病 |
| F. verticillioides) | |
| 立枯絲核菌(Rhizoctonia solani) | 莖腐病 |
| 腐霉菌及疫病菌(Pythium sp. , Phytophthora citrophthora, P. | 猝倒病、根腐病、疫病 |
| colocasiae, P. capsici, P. parasitica , P. infestans and | |
| P.cinnamomi) | |
| Heterobasidium annosum, Armillaria mellea, Ceratocystisulmi, | 根腐病 |
| Chondrostereum puepurem, Phellinus spp.,Ganoderma | |
| boninense | |
| Sclerotium rolfsii | 白絹病 |
| 青枯病菌(Ralstonia solnacearum) | 番茄青枯病 |
| Sclerotium cepivorum, Sclerotium spp. | 菌核病 |
| 根瘤菌Plasmodiophora brassica | 十字花科作物根瘤病 |
| 根瘤線蟲Meloidogyne spp Meloidogyne incognita、Radopholus | 作物根瘤線蟲病 |
| similis · Helicotylenchus multicinctus | |
| 病原 | 葉部病害 |
| 灰黴病菌(Botrytis spp.) | 灰黴病 |
| 葉斑病菌(Cercospora canescens) | 蔬菜綠豆葉斑病 |
| 炭疽病菌(Collectotrichum spp.) | 炭疽病 |
| 早疫病菌(Alternaria solani) | 早疫病菌 |
| 黑斑病菌(Alternaria brassicae) | 十字花科黑斑病 |

表格資料源自於:[微生物] 綠色木黴菌 | 農業最佳處方籤 (microgreen.com.tw) (註9)

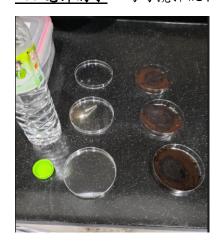
參、自製培養

- 一 研究與設計培養方法
- 1 製作培養基的基底
- 2 加入木黴菌的孢子粉
- 3 開始進行觀察,分別以水、糖水、養樂多進行餵養十週。

二 實作過程

(一)過程描述

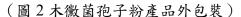
1 以咖啡渣為木黴菌的培養基底,共製作三個,三個皆以 300 克的咖啡渣加 100 毫升的水,均勻攪拌混和,加水的目的是為了製造潮濕的效果。



(圖1備製木黴菌培養基)

2 買來的<u>木黴菌孢子粉</u>,分別以 <u>100 克的重量</u>加入咖啡渣中,然後均匀的攪拌,最好讓孢子粉均匀的分佈在潮濕的咖啡渣中。







(圖3 木黴菌孢子粉外觀)

3 以每個禮拜觀察一次木黴菌在咖啡渣中的生長狀況,看看在不同養分的應變變因的餵養下,生長有何區別。三組分別以 50 毫升的水、1:1 的 50 毫升的糖水與 50 毫升的溫養樂多進行餵養,以這樣的方式進行為期十週的培養計畫。

三 過程照片



右:養樂多) (圖4 左:糖水



(圖5 餵養木黴菌清水)



(圖6 餵養木黴菌清水)



(圖7餵養木黴菌養樂多) (圖8餵養木黴菌糖水)



四 10 週觀察生長過程(表格)

| | 水 | 糖水 | 養樂多 |
|-----------------|--|--------------------------------------|-------------------------------|
| 第 週 10 月 日 狀 描 | (圖9清水組生長第一週) 生長快速,色澤良好, 味道如同咖啡加草的味 | 個 10 糖水組生長第一週) 與清水餵養的狀況相同,味道也是一樣。 | (圖 11 養樂多組生長第一週) 與清水餵養的狀況相 |
| 描处 | 道。 | 问, <u></u> 怀理也定一禄。 | 同,味道也是一樣,唯 一不同就是水蒸氣較 多。 |
| 第 2 週 10 月 16 日 | (圖 12 清水組生長第二週) | (圖 13 糖水組生長第二週) | (圖 14 養樂多組生長第二週) |
| 狀況描述 | 色澤變淡,味道與前一 週相同,持續長出孢子 | 與清水組的狀況、顏 色相同,水蒸氣較多 | 與清水組的狀況、顏色 相同,水蒸氣較多 |

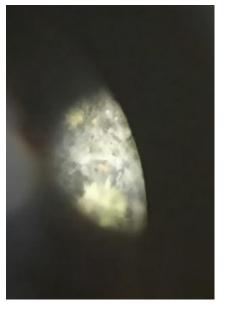
| 第 3 週 | | | |
|-------|-----------------|-----------------|------------------|
| 10 | | | |
| 月 | | | 1000 Y |
| 23 | | (圖 16 糖水組生長第三週) | (圖 17 養樂多組生長第三週) |
| 日 | (圖 15 清水組生長第三週) | | |
| 狀況 | 顏色、味道持續相同, | 顏色、味道持續相 | 顏色、味道持續相同, |
| 描述 | 產出的孢子較少。 | 同,孢子較清水組多 | 孢子較糖水組多。 |
| 第 4 週 | | | |
| 10 | | | |
| 月 | | | |
| 30 | (圖 18 清水組生長第四週) | (圖 19 糖水組生長第四週) | (圖 20 養樂多組生長第四週) |
| 日 | | | |
| 狀況 | 與第三週的所有狀態完 | 與第三週的所有狀態 | 與第三週的所有狀態完 |
| 描述 | 全相同,孢子產出較 | 完全相同,新孢子較 | 全相同,新孢子較糖水 |
| | 少。 | 清水組多。 | 組多。 |

| 第 5 週 11 | | | |
|----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| 月 6 | | | |
| 日 | (圖 21 清水組生長第五週) | (圖 22 糖水組生長第五週) | (圖 23 養樂多組生長第五週) |
| 狀況 | 與第四週的所有狀態完 | 產出鮮綠色的孢子, | 產出鮮綠色的孢子,而 |
| 描述 | 全相同,仍有孢子產 | 味道還是與第四週一 | 且比糖水組還多,跟出 |
| | 出,但是微量。 | 樣。 | 現紅色的分泌汁液。 |
| 第 6 | | | |
| 週 | | | |
| 11 | | | |
| 月 | | | |
| 13 | (圖 24 清水組生長第六週) | (圖 25 糖水組生長第六週) | (圖 26 養樂多組生長第六週) |
| 日 | | | |
| 狀況 | 與第五週的所有狀態完 | 更多的區域產出鮮綠 | 仍有產出鮮綠色的孢 |
| 描述 | 全相同,仍有孢子產 | 色的孢子,孢子產出 | 子,但被一層不知所以 |
| | 出,但是微量。 | 量大增,味道還是相 | 的白色黴菌與其他雜種 |
| | | 同,也出現紅色的分 | 黴菌覆蓋,出現更多紅 |
| | | 泌汁液。 | 色的分泌汁液。 |

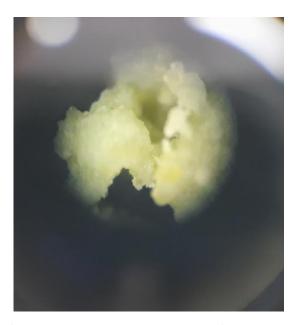
第 7 週 11 月 20 (圖27 清水組生長第七週) 日 (圖28 糖水組生長第七週) (圖29 養樂多組生長第七週) 與第六週的所有狀態完 產出鮮綠色孢子持續 白色黴菌與其他雜種黴 狀況 擴張,產出量僅次於 菌變多,快要將木黴菌 描述 全相同,仍有孢子產 出,但是微量。 第一週。味道還是相 完全遮蔽與搶走養分, 同,分泌汁液增加。 出現爆量的分泌汁液。 第8 週 11 月 27 (圖31 糖水組生長第八週) (圖30清水組生長第八週) (圖32養樂多組生長第八週) 日 狀況 與第七週的所有狀態完 產出鮮綠色孢子持續 白色黴菌與其他雜種黴 全相同, 孢子似乎沒有 描述 擴張,狀況良好,持 菌持續變多,培養基成 繼續產出。 續生長中。 塊狀, 出現發酵的味道

第9 调 12 月 4 日 (圖35 養樂多組生長第九週) (圖34 糖水組生長第九週) (圖 33 清水組生長第九週) 狀況 與第八週的所有狀態完 孢子繼續大量產出, 白色黴菌與其他雜種黴 全相同,孢子沒有繼續 但也跑進一些雜菌, 菌已完全佔據培養基, 描述 發酵味濃厚,汁液大量 產出,出現分泌汁液。 出現些許的發酵味。 第 10 週 12 月 (圖 36 清水組生長第十週) (圖38養樂多組生長第十週) (圖 37 糖水組生長第十週) 11 日 發酵味濃,木黴菌無產 完全沒有產出孢子,味 白色黴菌與其他雜種 狀況 道依舊不變,分泌汁液 菌佔據,木黴菌無產 出孢子,白色黴菌與其 描述 變多,培養基成塊狀。 出孢子,發酵味濃重 他雜種菌佔據培養基。

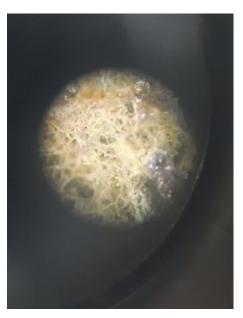
五 顯微鏡觀察照片



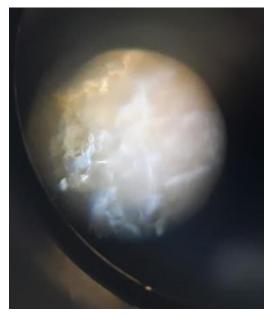
(圖 39 清水組生長十週後 顯微鏡拍攝)



(圖 40 對照組—只有生長一週)



(圖 41 糖水組生長十週後 顯微鏡拍攝)



(圖 42 養樂多組生長十週後 顯微鏡拍攝)

肆、心得與結論

一 實驗結果與結論

從上面的實驗結果來看,在前期一兩週的生長狀況大致沒有什麼差異,直到三四週時,才開始產生差異,<u>五到九週的時間裡,差異開始變大</u>,一直到第十週,糖水組與養樂多組的生長狀況差異才減緩。從前期來看,在不同變因的餵養下,木黴菌的生長狀況都差不多,推測前期主要的養份來源是<u>咖啡渣</u>,等到三四週時,<u>咖啡渣的養分慢慢被木黴菌給消耗完</u>,養分的來源<u>代替變成糖水與養樂多</u>,而<u>清水沒有養份</u>,所以在三四週,甚至是後面五到九週的生長沒有比養樂多組跟糖水組來的好。再者,糖水組與養樂多組的比較,我推測因為養樂多比糖水多了養樂多代田菌、維生素 E 與其他人工化合物 等等,所以變異的程度比較大,還有我推測木黴菌到後期也沒有繼續產出孢子,因為空間有限的關係,所以到後期即使有繼續餵養有養份的物質,木黴菌也沒有大量的生長與產出孢子。以結果來看,如果一個農夫要防止植物病菌危害而去培養木黴菌,對木黴菌最好的養分:咖啡渣 > 糖水 >= 養樂多,而最好的時間則是越早越好,但如果是糖水的話,可以延續到 8 個禮拜。

養分排名:

咖啡渣 > 糖水 >= 養樂多 >>>>>> 水

時間:

咖啡渣 越短的時間,孢子產出速度越快。 糖水 越短的時間越好,可延續至8週。 養樂多 越短的時間越好,可延續至5週。 水 對木黴菌的生長沒有什麼效果。

二 討論改進

實驗可改進的地方

(一) 打開培養皿餵養時,與**空氣接觸的時間可能太久**,導致其他的菌類跑進 培養皿中,影響木黴菌的生長。

如何改進:

減少與外面空氣接觸的時間,餵完有養分的物質後,必須將培養皿的**蓋子快速** 蓋上並蓋緊蓋好。

(二) 培養皿空間太少,導致孢子的產出量沒有預想中的那麼多。

如何改進

必須在木黴菌產出孢子時,將培養皿的空間增大,**可換成保鮮盒等等較大,與** 空氣隔絕的盒子當成較大的培養皿。

(三) 培養皿中出現大量紅色的汁液分泌物,培養皿的潮濕程度遠大於我的預料,且為基質的咖啡渣因而結塊。

如何改進:

清水、糖水與養樂多的餵養**液體毫升數可以縮減**一些,而糖水的**水分佔比也可** 以縮減一些。 我原本是對微生物、黴菌、細菌或病毒等等的生物界有極大興趣的學生,所以一直對微生物的實驗也有很大的興趣,而在這次的木黴菌培養實驗中,體會到微生物的實驗並非我想像中那麼簡單與輕易,與化學、物理的實驗相比,我覺得這次實驗比較有困難度,不僅要調配餵養的食物、還要顧慮到空間、溼度等等眾多因素,比物理、化學的實驗還要多,但我也是樂而為之,因為這也是學習的一部份。之前我就有去查詢過木黴菌的相關文獻與資料,但在看相關資料時,我就想要親手來培養試試看,雖然這次實驗沒有呈現出預期中的結果,還有比較可惜的是,自己培養出的木黴菌沒有實戰的經驗,也就是找到相關的植物病菌來試試看木黴菌的超寄生效果,以上這幾點是這次的實驗比較可惜的地方,若有機會,以這些教訓與經驗,可以作為下次實驗的改良,做得更好的地方,這也是這次自主學習—木黴菌培養計畫 我所學到的地方。

伍、附錄

- 註 1 農業生技當紅 台灣跟得上國際腳步嗎? | GeneOnline News
- 註2 是藥還是毒 農藥面面觀 (coa.gov.tw)
- 註3木黴菌屬 維基百科,自由的百科全書 (wikipedia.org)
- 註 4 木黴菌簡介與應用-農藥與植物保護主題館-農業知識入口網 (coa.gov.tw)
- 註 5 資材研發組 農業藥物毒物試驗所 (tactri.gov.tw) TC02-121-08.pdf (tdais.gov.tw)
- 註 6 最新消息 (yuan-mei.com.tw)
- 註7 木黴菌 農業知識入口網 (coa.gov.tw)
- 註 8 <u>菌類學習資源 (nmns.edu.tw)</u>
- 註9[微生物] 綠色木黴菌 | 農業最佳處方籤 (microgreen.com.tw)
- 圖 1~圖 42 自行拍攝