黑殭菌量產技術改進計畫

曾敏南

黑殭菌在液態培養之環境下可能只產生大量菌絲及芽孢，而所獲得之芽孢雖可運用於生物防治之工作中，但由於芽孢在保存上可能更不利於分生孢子，因此利用液態培養生產分生孢子之經濟效益，可能更高於利用固態生產之方式，故發展液態環境生產分生孢子之技術，或許可改善上述缺點，並達到更佳之經濟效益。*Penicillium oxalicum*、*P. cyclopium*、*P. notatum* 以及 *Ulocladium atrum* 被用於植物病害之生物防治媒介，目前已有報告指出上述菌株可利用液態培養來生產分生孢子。近幾年亦有報告指出 *Metarhizium flavoviride* 可藉由誘導之方式在液態環境下產生分生孢子，而本場亦已於 91 年度自行研究計畫中成功利用液態培養基之水勢 (water potential) 調整及不同濃度之氯化鈣 ($CaCl_2$) 的添加來誘導液態培養狀態下產生分生孢子，為了有效將黑殭菌液態培養量放大，因此以本場搖瓶試驗所得之參數轉移至本年(92)度添購之桌上型醱酵設備繼續進行試驗。

本試驗結果發現搖瓶試驗中所獲得添加氯化鈣之條件，用於小型醱酵槽時，仍可誘導黑量菌明顯產孢。但配合 pH 值及水勢調整兩項條件，黑殭菌產孢量並未明顯比搖瓶試驗中之所得高，因此仍需繼續測試其他條件及參數。全程 pH 4.8 所得之產量明顯較 pH5.5 及 pH6.5 高，此可能是因為較接近 pH 中性之條件，較有利於菌體進行營養生殖，此外，由實驗中可發現大約在醱酵第 96 小時，分生孢子濃度最高，96 小時後濃度開始下降，此可能是因為在液態培養環境下產生之分生孢子，在接觸培養液之後又發芽並生長菌絲之原固，這種現象我們亦可在固態培養中發現，當固態培養基之黑殭菌菌落上著生大量分生孢子後，如菌落老化後於菌落上方泌出液體時，上層之分生孢子又可發芽並產生大量菌絲。

本次試驗中以甘油進行水勢調整，由於在醱酵槽體中無法測試水勢，故使用添加量來定量，實驗結果發現添加 5%~15%之甘油階不利於產孢，尤其是添加 15%甘油者，完全無法產孢，且菌絲團粒生長情況不佳，此可能由於水勢過低，導致菌絲生長不易。然而進行搖瓶培養時，添加 7.3%甘油有助於產孢量，但是在本次試驗中添加 5%及 10%皆不利於產孢，其原因並不明瞭，將繼續進行相關條件試驗。經試驗觀察，黑殭菌在醱酵槽培養後，可於菌絲側邊及末端產生分生孢子梗，產孢構造與固態培養時所產生者相似， Frey and Magan (2001) 以液態方式培養 *U. atrum* 之分生孢子時，亦可發現分生孢子梗並於末端著生分生孢子。在本次試驗之結果，液態培養所產生之產孢構造之形態特徵與固態培養下所產生之產孢構造並無差異，同樣具有分生孢子梗，並於分生孢子梗上著生瓶梗，再於瓶梗末端著生分生孢子，唯本試驗觀察結果並未發現孢子之著生方式有如固態培養時，產生長鏈狀或柱狀孢子束，此可能是因為在液態培養當中，因振盪之故而斷落。