

# 中華民國第 57 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 生物科

030322

白殭軍笑談色素-白殭菌的習性探討

學校名稱：桃園市立慈文國民中學

作者：  國三 吳旻叡  國三 簡子鈞  國三 劉彥伯	指導老師：  賴昱龍
-----------------------------------------------	------------------

關鍵詞：黑色素、白殭菌、色光

## 摘要

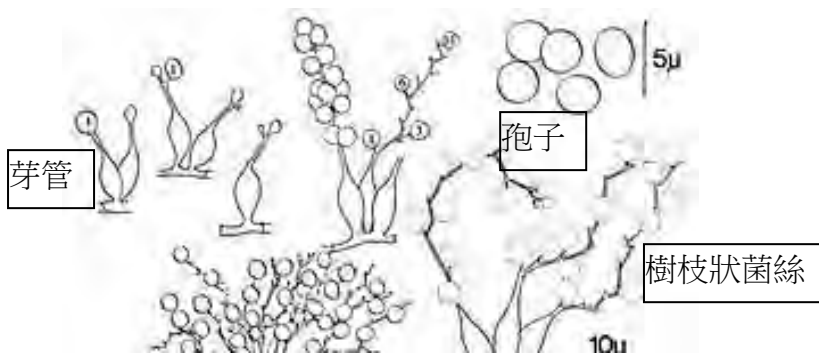
本實驗採用野外木蠹蛾殭蠶、市售偏紅及偏白三種殭蠶作為材料，並討論殭蠶特性及其體內成分對黑色素生成。其真菌菌絲皆深入體表層內，偏紅者由青黴菌產生胡蘿蔔素所致，偏白者有石灰。木蠹蛾及偏白殭蠶皆有小球孢白殭菌寄生，實驗結果發現藍光可刺激該菌孢子萌發。偏紅殭蠶上青黴菌有暗紅色及白色兩種菌落，發現紅光會促進白殭菌菌落萌發，且會誘發高比例的暗紅色菌落；而藍光有抑制暗紅色白殭菌的效果。投入白殭菌液或木蠹蛾殭蠶萃取液至 0.17% 黑色素水溶液中，能有效使墨魚黑色素分解，另偏紅殭蠶萃取液使黑色素分解能力勝於偏白殭蠶萃取液，能減少黑色素比例。

## 壹、 研究動機

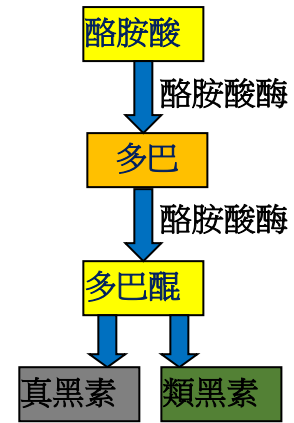
生物課堂中老師有提到很多真菌會寄生在昆蟲體內，達到生物防治目的，野外常見許多蛾類的幼蟲也常被白殭菌寄生，其中白殭菌寄生在家蠶體內，稱為白殭蠶，不但對人體無害，甚至可製成中藥，在一般中藥店即可購得。

神農本草經記載：白殭蠶其味辛、鹹，主治清風喉痺、小兒驚癇等病症。又因其色白，可治黑斑，具有使「皮膚美白」的功效。黑色素是一種生物色素，普遍存在於動物、植物以及原生生物中。黑色素可吸收光譜中的紫外段(波長 385nm~450nm)，通常是以聚合的方式存在於黑色素細胞中，其中的酪氨酸經由酪氨酸酶作用，藉由氧化、脫羧等反應轉變為黑色素，其合成相關黑色素路徑如圖二所示(張川虎，2004)。黑色素又分成兩種：真黑素(eumelanin)和類黑素(pheomelanin)，前者普遍存在於哺乳類皮膚中。既然白殭蠶可能具有抑制黑色素的功能，因而我們使用常用食物中的一種真黑素-墨魚黑色素，並利用波長 400nm 測量吸光值以量化黑色素，檢測白殭菌的美白功能。

我們搜尋資料發現白殭菌的寄主非常廣泛，已記錄可寄生於 5 目 24 科約 190 餘種的昆蟲幼蟲、蛹和成蟲身上，例如：蚜蟲、螞蟻、蚊子、蝗蟲、蟬等，均可成為它的受害者。孢子菌絲會膨大形成的芽管，芽管後的菌絲呈樹枝狀，並形成分生孢子。如果可以進一步研究白殭菌的孢子萌發影響，將可提高生物防治的效益。而許多真菌生活史，如：孢子產生與萌發，子實體生長，色素的產生等，皆和光有關係。如果用不同顏色的光處理後，白殭菌的萌發或成長速度是否也會有改變?這是我們想探討的問題。



圖一、白殭菌細部結構圖



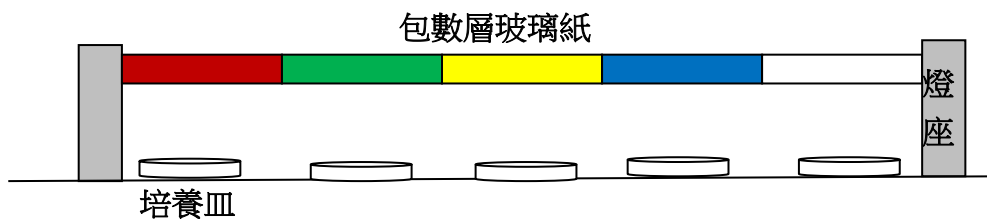
圖二、哺乳類黑色素合成途徑

## 貳、 研究目的

- 一、採集並鑑識數種白殭蠶的寄生菌種。
- 二、不同波長的色光對白殭菌萌發的影響。
- 三、探討白殭菌液對於分解墨魚黑色素之能力。

## 參、 研究設備及器材

- 一、 白殭菌的培養與鑑定：白殭蠶數隻、複式顯微鏡。
- 二、 色光對白殭菌生長之影響
  - (一)實驗器材：玉米粉 46g、洋菜粉 8g、燒杯 100 mL 一個、燒杯 500 mL 一個、太陽能秤、玻棒、酒精燈、三腳架、陶瓷纖維網、純水 350 mL、培養皿 12 個、70%酒精 50 mL、藥匙、石蠟膜數條、鋁箔紙。
  - (二)自製設備：紅、綠、黃、藍、透明玻璃紙各數張、燈管一組。


















圖三、自製色光燈管模型

### 三、白殭菌對黑色素之影響

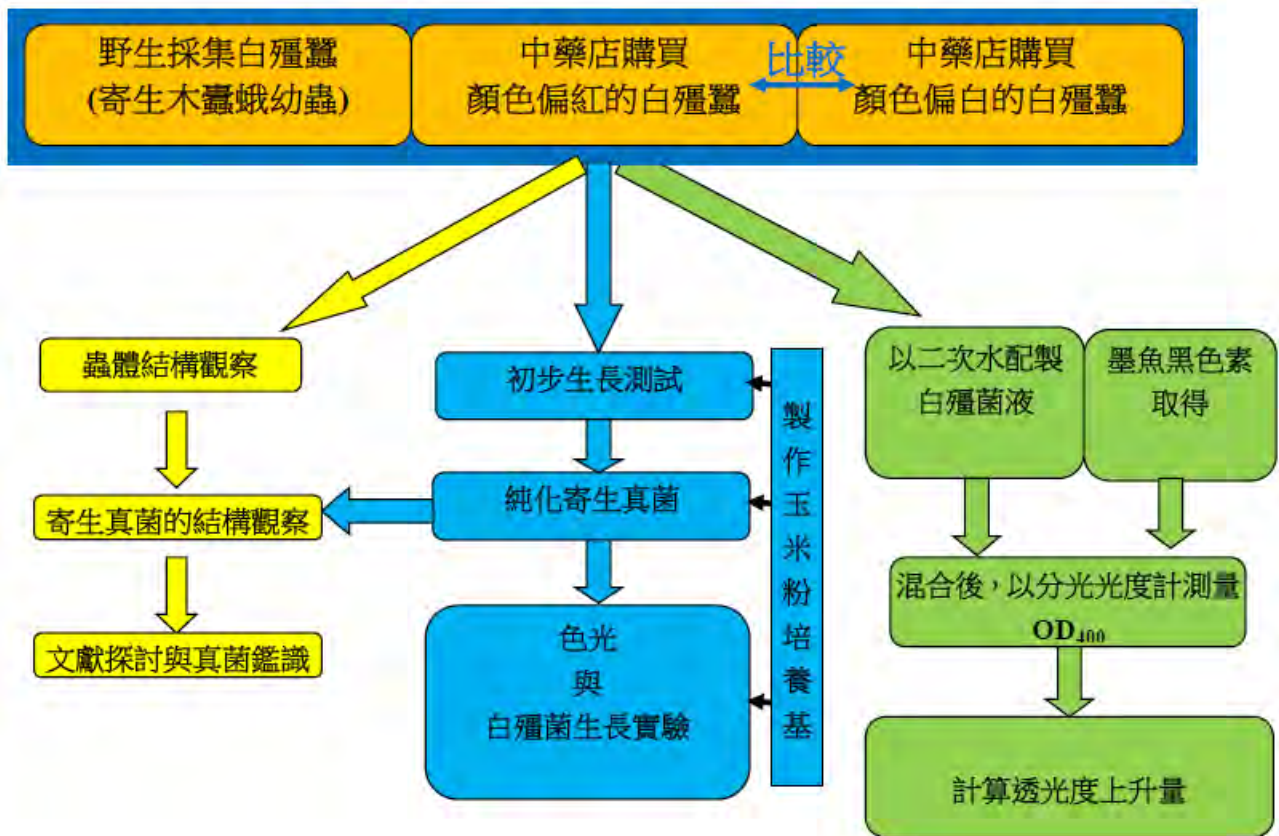
(一) 生物類：偏白殭蠶半隻、偏紅殭蠶半隻、木蠹蛾殭蠶一隻、白殭菌菌落兩個、墨魚黑色素 0.1g。

(二) 非生物：70%酒精少許、二次水(ddH<sub>2</sub>O)少許、微量天平一台、滴管數支、分光光度計(spectrophotometer)一台、微量吸管(pipetman)一支、半微量型石英管一個、拭淨紙(Kimwipes)數張、試管數支、量筒 10mL 數個、量筒 50mL 數個、研鉢一組、藥匙數支、冰盆一盆、解剖針一支、酒精燈一個。

白殭蠶 	石蠟膜 	光度檢測儀 
洋菜粉 	培養基 	95%酒精 
玉米粉 	針筒 	黑色素 
林格式液 	複式顯微鏡(Motic) 	解剖針 
微量天平(PA224) 	分光光度計(1200) 	微量吸管(Pipetman) 

圖四、實驗器材

## 肆、 研究過程或方法



圖五、實驗流程架構圖

### 一、 殭蠶樣本取得與蟲體結構觀察

- (一)至中藥店購得白殭蠶。
- (二)至學校附近的樹幹尋找被白殭菌寄生的昆蟲。
- (三)觀察樣品外型(顏色、大小)。
- (四)以解剖刀將蟲體橫切，以解剖顯微鏡觀察切面。

### 二、 玉米粉培養基製作與白殭菌菌落生長測試

- (一)以 70%酒精消毒各種容器。
- (二)玉米粉 10 g、洋菜粉 5 g、加入 310 g 無菌水，倒入已滅菌之鍋中，以玻棒攪拌。
- (三)以酒精燈持續加熱，並持續攪拌，至其沸騰.重複以上動作兩次。
- (四)待冷卻後，添加 1% Chloramphenicol 抗生素，將培養基平均倒入 5 個培養皿中，

並將其放至陰涼處靜置兩日。

(五)以研鉢研磨半隻白殭蠶製粉狀，加入 100 g 無菌水，此即白殭菌液。

(六)取出 2 mL 白殭菌液加入 18 mL 無菌水稀釋，並塗布在培養基上。

(七)取 2 mL 步驟(六)之稀釋菌液再加入 18 mL 無菌水稀釋，並塗布在培養基上。

(八)再取 2 mL 步驟(六)之稀釋菌液，再加入 18 mL 無菌水稀釋，並塗布在培養基上。

(九)以石蠟膜封住上述培養基周圍，再後放至陰涼處。

(十)觀察數天，並記錄各培養基菌落生長情形。

### 三、 純化菌株與寄生真菌的結構觀察

(一)製作玉米粉培養基數個。

(二)靜置兩天，待水分大部分蒸發後，放於陰涼處保存。

(三)將上述生長測試的單一菌落以滅菌過的解剖針挑起，並輕劃至新培養皿表面上。

(四)將步驟(三)純化的菌株挑起，放上載玻片，以複式顯微鏡觀察。

(五)鏡檢確認具菌絲及分生孢子結構。

### 四、 色光對白殭菌生長之影響實驗

(一)將純化之白殭菌菌落置於黑暗處。

(二)以滅菌的解剖針在黑暗處挑起 2 個純化菌落，加入 10 mL 的無菌水。

(三)搖動 100 次讓菌液均勻混合。

(四)打開自製燈管，以光源檢測器檢測各色光的強度，並以玻璃紙包裹調整光度，使五種色光強度差異最小。

(五)取 1 mL 的菌液塗布在培養基上，然後迅速放至色光下。

(六)將培養基分別放置於五種色光(紅、綠、藍、黃、白)下，並以溫度計測量各色光溫度是否相近。

(七) 照光數天後，觀察並記錄菌落生長情形。重覆步驟(一)~(六)三次。

## 五、 白殭菌對色素之影響實驗

(一)以 70%酒精消毒所有器具。

(二)以微量天平量取 0.05g 的黑色素,再加入 10mL 的二次水,調配成 0.5%黑色素水溶液母液。

(三)取 1mL 的 0.5%黑色素水溶液母液再加入 2mL 二次水均勻搖晃,調配成三倍稀釋的黑色素水溶液(濃度為 0.17%),此為對照組。

(四)分別將偏紅殭蠶半隻(約 0.00175g)、偏白殭蠶半隻(約 0.00175g)、木蠹蛾殭蠶一隻(約 0.03g)、以及純白殭菌菌落兩處加入 10mL 二次水,再將以上菌液均勻搖晃,使白殭菌孢子均勻散佈在溶液裡,以上皆為實驗組。(配置如下表)

組別	配置方式
偏白殭蠶液	蠶體 0.00175g 磨粉+10mL 二次水+5mL 黑色素溶液
偏紅殭蠶液	蠶體 0.00175g 磨粉+10mL 二次水+5mL 黑色素溶液
木蠹蛾白殭液	蠶體 0.00175g 磨粉+10mL 二次水+5mL 黑色素溶液
純白殭菌液	純化白殭菌落 2 個+10mL 二次水+5mL 黑色素溶液
黑色素水溶液	0.05g 黑色素+30mL 二次水

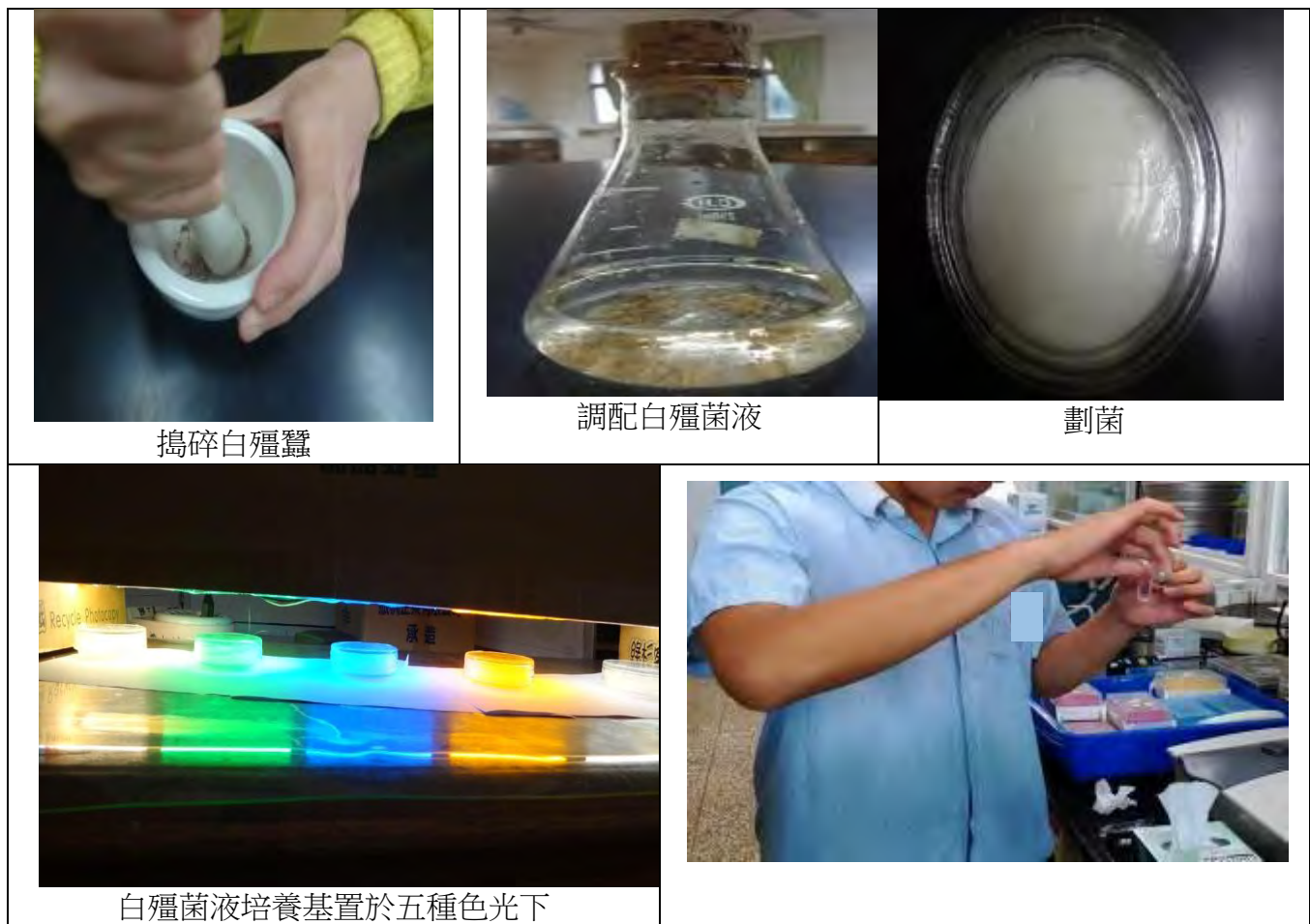
(五)將分光光度計的光波設定到 400nm。

(六)將二次水加入石英管中設定此為空白液,再把亮面對準射光口,確認其透光度,設定為 **blank**。(途中若石英管上有雜質,以拭淨紙擦拭)

(七)用二次水清洗石英管。

(八)各實驗組用微量吸管加入黑色素水溶液,並均勻搖晃,並放入分光光度計測量,分別於 0 秒、30 分鐘、60 分鐘、120 分鐘、240 分鐘測量其透光度。

(九)以上實驗重複三次,並將結果記錄下來。



圖六、實驗步驟

## 伍、 研究結果

### 一、 殭蠶樣本取得與寄生菌種辨識

#### (一)樣品取得與蟲體觀察

##### 1.中藥行購置白殭蠶

我們到學校附近的街道上，有數家中藥行，購得數條不同店家的殭蠶，發現有兩種顏色的殭蠶：偏紅色殭蠶與偏白色殭蠶，體長皆為 6~8 公分，拍攝照片如圖(七)。

詢問店家相關殭蠶製備過程，兩者皆取自被白殭菌寄生死亡的家蠶(*Bombyx mori*，家蠶屬，蠶蛾科，鱗翅目)，乾燥而得，過程可能添加石灰加速乾燥。故我們初步推測石灰添加造成兩者顏色的差異，因此我們想檢驗偏白殭蠶是否有石灰。

石灰成分是氧化鈣( $\text{CaO}$ )，溶於水形成鹼性的氫氧化鈣( $\text{Ca(OH)}_2$ )，若吐入二氧化碳，會形成碳酸鈣( $\text{CaCO}_3$ )，此時加入酸後，會有二氧化碳產生，其反應說明如下：



石灰  $\text{CaO}_{(s)} + \text{H}_2\text{O}_{(l)} \rightarrow \text{Ca}(\text{OH})_{2(aq)}$  (pH 值較高)

$\text{Ca}(\text{OH})_{2(aq)} + \text{CO}_{2(g)} \rightarrow \text{CaCO}_{3(s)} + \text{H}_2\text{O}_{(l)}$

$\text{CaCO}_{3(s)} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{Ca}^{2+} + \text{CO}_{2(g)} + \text{H}_2\text{O}_{(l)}$  (加酸後有氣泡產生)

將偏白和偏紅殭蠶以研鉢磨成粉末，分別加等量水，經大力搖晃後靜置，待沉澱物沉降後，取上清液，滴加廣用試紙檢驗變色，結果兩者顏色皆落於 pH=5~7 之間，而偏白殭蠶的 pH 值顯現顏色較偏紅殭蠶暗，說明偏白殭蠶的 pH 值高於偏紅殭蠶。另外我們將上清液吐入  $\text{CO}_2$  後，再滴加醋酸，可發現偏白殭蠶組有冒泡情形，而偏紅殭蠶則無，結果如圖(七)。以上結果可說明偏白殭蠶上有石灰成分，使其顏色偏白。

	偏紅殭蠶	偏白殭蠶
外觀		
粉末	 較易磨碎，粉末偏紅棕色。	 研磨過程有硬塊不易磨碎，粉末偏白棕色。
粉末溶於水	 有沉澱物，上清液偏紅	 有沉澱物，上清液偏淺
上清液滴廣用試紙	 pH5~6	 pH6~7
上清液吐入 $\text{CO}_2$ 後再加醋酸	 沒有冒泡，較澄清	 有冒泡，較混濁

圖七、比較市售偏紅殭蠶及偏白殭蠶

## 2. 白殭菌寄生木蠹蛾幼蟲




同時我們拜訪研究真菌相關的教授，得知野外也有許多白殭菌寄生的蟲體，發現住家附近的行道樹-白千層的樹皮中，有許多已遭白殭菌寄生之蛾的幼蟲，長度約1~2公分，呈灰白色，經探討後為木蠹蛾之幼蟲，拍攝照片如圖(八)所示。



圖八、木蠹蛾殭蠶採集：左及中、白千層樹皮內側有許多木蠹蛾 右、木蠹蛾殭蠶

### 3. 蟲體切面觀察

偏紅殭蠶、偏白殭蠶及木蠹蛾殭蠶三者的蟲體橫切面，經解剖顯微鏡觀察，如圖(九)所示，皆可發現有菌絲侵入表層，並未延伸至內部。

	偏紅殭蠶	偏白殭蠶	木蠹蛾殭蠶
蟲體剖面圖			

圖九、市售殭蠶與木蠹蛾殭蠶蟲體切面圖(以解剖顯微鏡 40X 觀察)

### (二) 純化菌株與菌體辨識




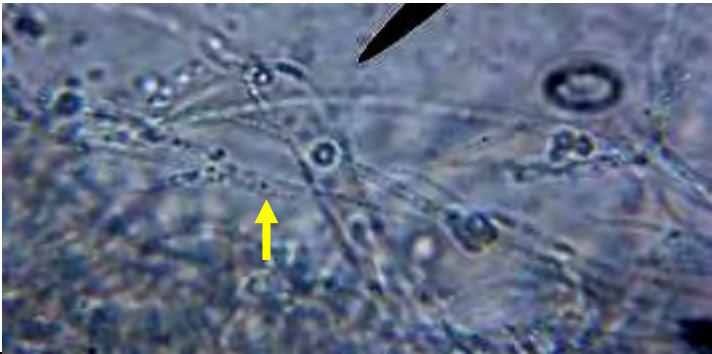


我們將偏紅殭蠶、偏白殭蠶和木蠹蛾殭蠶磨粉加無菌水，先以無抗生素的培養基培養，再將各種不同型態或顏色的單一菌落劃至有抗生素(1% Chloramphenicol)的玉米粉培養基。其純化後的菌種再以複式顯微鏡觀察其細部結構，其結果如圖(十)。

我們發現從偏白殭蠶與木蠹蛾殭蠶可純化出白色菌落，顯微鏡下，兩者的菌絲為樹枝狀，且有芽管構造(如圖十黃色箭頭所指)，因此我們認為寄生於兩種殭蠶的真菌皆為白殭菌。而偏紅殭蠶身上所純化出的菌落大部分呈現暗紅色，且其中所含的真菌可分為兩種，第一種菌種菌絲為筆狀體，且其分生孢子為掃帚狀，我們認為它可能是 *Penicillus*(青黴菌)。第二種菌種孢子為球狀或鍊狀，顏色呈現黑色，推測可能為 *Alternaria*(鍊格胞菌)，經文獻探討，青黴菌在特殊環境下，會分泌出紅色色素，因此我們推測這是導致紅蠶體表呈現紅色的原因。

從中藥行購來的兩種殭蠶中，我們從偏紅殭蠶純化出的菌種並非白殭菌，可能是大多白殭菌的孢子在製備過程裡失去活性，使其在新的培養基中仍無法萌發，由其他常見真菌取代，故其特性應該與一般白殭菌的藥理特性有所差異。

文獻探討中，我們查得常見的白殭菌種類整理如表(一)，本實驗的白殭菌菌落呈現絨毛狀，菌落顏色為白色，且孢子為球形，較接近小球孢白殭菌。

圖十、三種殭蠶蟲體上真菌純化菌落與真菌結構圖(複式顯微鏡 400X)

	純化後的菌落型態	400X 複式顯微鏡觀察純化菌落
偏紅殭蠶	紅色與棕色小菌落 	青黴菌 鍊格胞菌 
偏白殭蠶	白色，有白色菌絲。 菌落數偏少。 	白殭菌 
木蠹蛾殭蠶	白色，有白色菌絲。 菌落數極多。 	

(箭頭所指為白殭菌芽管膨大構造)

	球孢白殭菌	小球孢白殭菌	布氏白殭菌
分生孢子形狀	球形	球形	橢圓形
菌落顏色	無色至淡黃色	白色至乳白色	白色或桑紅色
菌落型態	平絨狀	絨毛狀或粉狀	絨毛狀或粉狀

表一、常見白殭菌種類特徵整理表

### (三)不同濃度菌液的生長測試

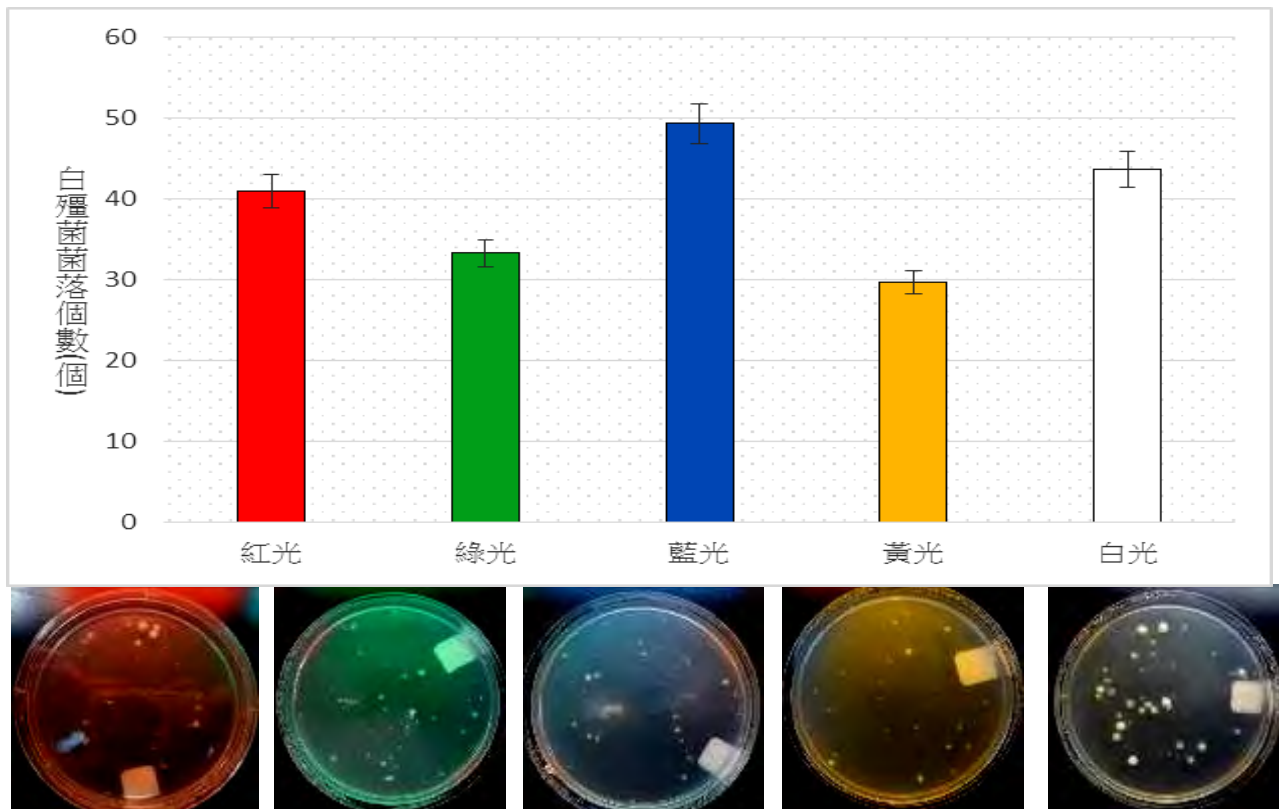
我們將白殭蠶磨碎後以不同量的無菌水稀釋孢子，再塗布到玉米培養基上，發現 0.00175 克重的蟲粉/100 mL 無菌水的比例，其生長效果最佳。

### 二、不同色光對殭蠶寄生真菌孢子萌發之影響

我們設計同一個燈管，分成五個相同長度的區域，以不同顏色玻璃紙包住燈管，使燈管呈現五種顏色：紅、綠、藍、黃和白色。另外使用光度檢測儀，測量結果落於 910~780 流明。證實各種色光的光度沒有太大的差異，且長時間照射，各色光仍可維持較一致的光量。

#### (一) 各色光與白殭菌菌落總數量的生長關係

從木蠹蛾殭蠶純化出的白殭菌，在黑暗中取純化後的白殭菌菌落 2 個，於黑暗中混合 10 mL 的無菌水後大力搖晃，再取 1mL 菌液塗布在添加抗生素的玉米粉培養基，三天內計算其菌落，計數如圖(十一)所示。圖中得知在藍光下的白殭菌孢子萌發率較高，而白光和紅光則為其次，綠光與黃光則為最少菌落的，與藍光差了約 1.6 倍，經三次重複實驗皆為相同色光與菌落數的趨勢。

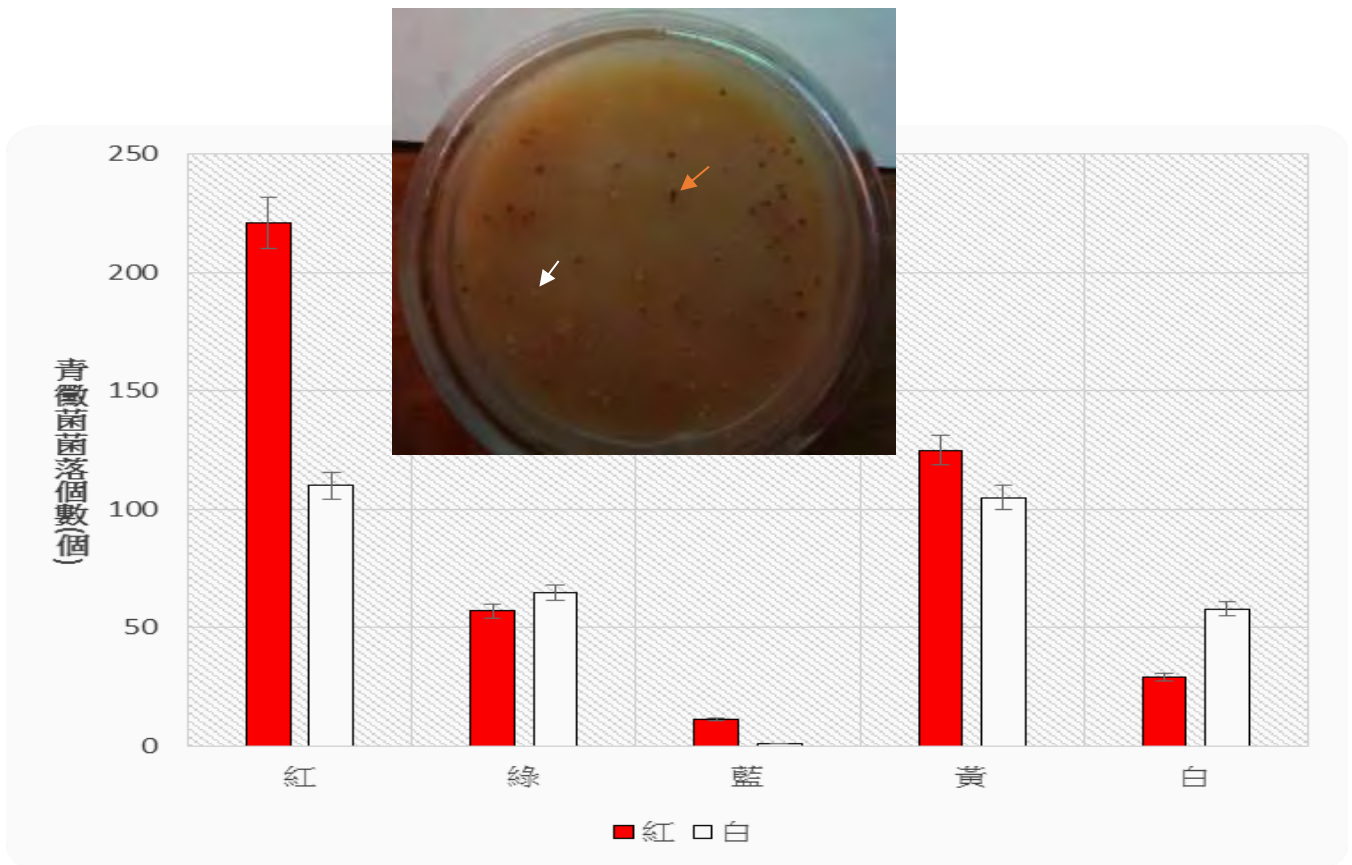


圖十一、白殭菌菌落總數與各色光處理之關係圖

## (二)各色光與青黴菌菌落總數量的生長關係

從偏紅殭蠶身上的寄生真菌，經純化得到青黴菌菌落，取青黴菌以不同色光處理下，相同菌液量下重覆三次後，計算其菌落數。圖(十二)中可以知道紅光下生長的青黴菌菌落總數最多，藍光生長的青黴菌菌落總數最少，相差比例高達 64 倍。初步結果可推得色光差異的確影響青黴菌萌發，其中紅光可促進，藍光抑制菌落形成。

我們發現有兩種顏色的青黴菌菌落：暗紅色和白色，如圖(十二)所示。我們觀察到不論以何種色光處理，都可看到有暗紅色的菌落和白色菌落兩種，計算兩種菌落數量，繪製如圖(十二)。圖中可顯示紅光處理下，暗紅色菌落比例偏高(約 2 倍)，而隨著色光波長減少，其暗紅色菌落比例減少，在黃光和綠光處理下，兩種菌落數約接近 1:1。而白光照射下，白色菌落比例偏高。初步推論紅光處理可促進暗紅色菌落的誘發，而白光較易誘發白色菌落產生。可見暗紅色菌落與白色菌體內，即有可能具有類似感光色素，感應紅光或藍光，進而誘導或抑制色素的產生。



圖十二、偏紅殭蠶上的青黴菌菌落有紅白兩種顏色，其菌落數與色光關係圖  
(箭頭所指為兩種顏色菌落)

### 三、殭蠶萃取液分解黑色素能力

我們將檢測下列四組背景溶液：白殭菌水、木蠹蛾殭蠶萃取液、偏白殭蠶萃取液以及偏紅殭蠶萃取液，各組皆加入兩倍體積的黑色素水溶液，並以波長 400nm 的近紫外線測量透光值，並以下列公式計算：

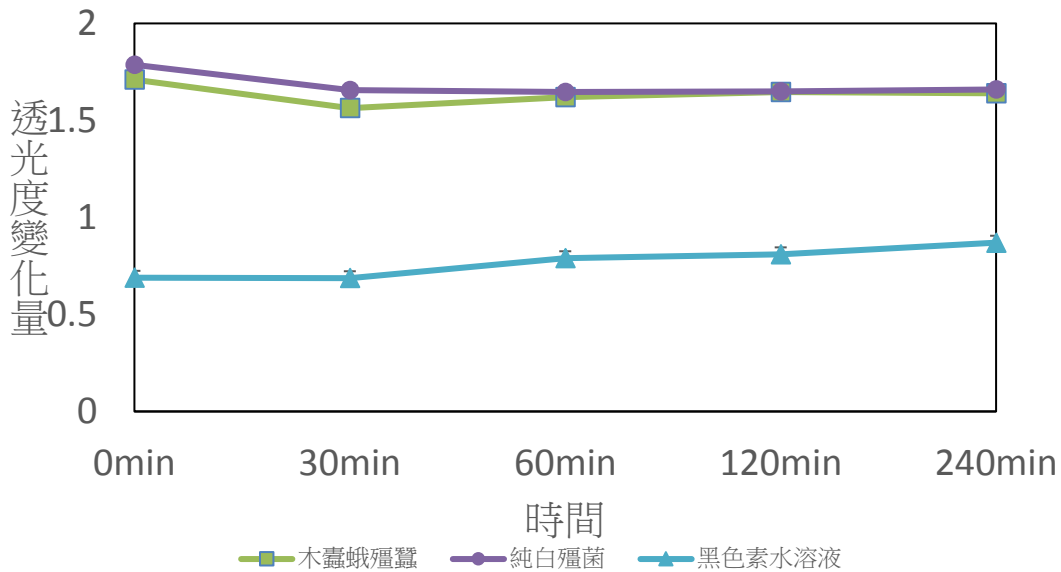
$$OD_{400} \text{ 透光度變化量} = \text{實驗組的 } OD_{400} - \text{背景溶液 } OD_{400}$$

，若能使黑色素量下降，其  $OD_{400}$  透光度變化量應會上升，而對照組則為黑色素水溶液加兩倍體積二次水。以上各組實驗組及對照組皆以二次水作為空白液。

#### (一)白殭菌萃取液及木蠹蛾萃取液對黑色素的影響

將野外採集的木蠹蛾殭蠶及木蠹蛾殭蠶純化的殭菌調配成萃取液，加入黑色素溶液後，分別 0、30、60、120 及 240 分鐘時觀察記錄，製成圖(十三)。0 分鐘時，實驗組的兩者萃取液，與對照組有明顯差異，且明顯有上升約 1.1 的透光度  $OD_{400}$  值，證實了本草綱目中白殭菌有使黑色素減少的現象。0~30 分鐘時，兩實驗組的變化量

最大，然而於 60 至 240 分鐘時，兩者的波動幅度趨於平緩，推測白殭菌的活性可能隨時間而減弱，其中 0~60 分鐘時的效果最好。



圖(十三) 自然殭蠶(菌)對黑色素之透光度變化量的關係圖

(透光度變化量=實驗組 OD<sub>400</sub> - 背景溶液 OD<sub>400</sub>)

## (二)中藥行的偏紅殭蠶及偏白殭蠶對黑色素之影響

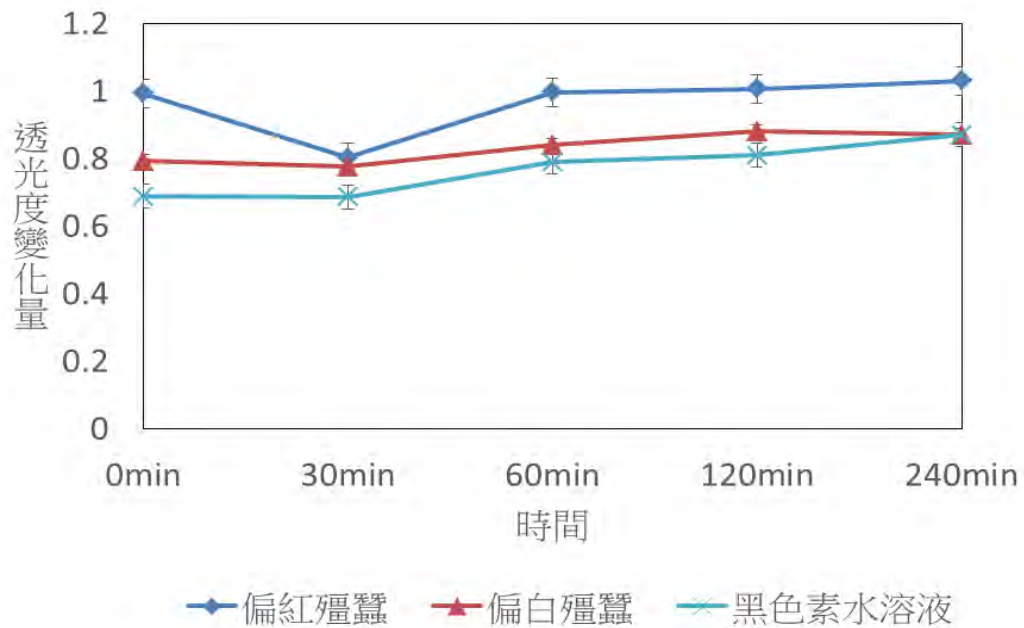
分別將半隻偏紅殭蠶、偏白殭蠶加入 10mL 二次水(ddH<sub>2</sub>O)配置成偏紅殭蠶萃取液及偏白殭蠶萃取液，接著取 2mL 偏紅殭蠶萃取液及偏白殭蠶萃取液各加入 1mL 黑色素水溶液，調配成偏紅殭蠶組及偏白殭蠶組，並以分光光度計在 0min、30min、60min、120min、240min 測量透光度，並將結果紀錄，製成下圖(十四)。

由圖(十四)中可看見，對照組黑色素水溶液的透光度 OD<sub>400</sub> 變化量理論上應保持不變，呈水平線，但在 30 至 60min 及 120 至 240min 時有上升的趨勢。所以我們推測黑色素在二次水中可能會少量的自然分解，使透光度略微上升，但差異幅度小，並不影響實驗組的數據判讀。

偏紅殭蠶組在 0min 時，與對照組有些許的差異，而在 0-30min 時，變化量則漸漸趨近於對照組，30-240min 的變化趨勢則與對照組有相同的趨勢，因此我們認為，在 0min 時，偏紅殭蠶上的白殭菌有最大的效果，隨著時間則慢慢消失。

而偏白殭蠶組的變化量在 0min 時，與對照組僅有微量的差異，接著 30-240min

時，變化的趨勢也隨著對照組而改變，我們認為，這是因為偏白殭蠶在製作過程中加入了石灰，因此破壞了白殭菌的活性，導致偏白殭蠶失去了白殭菌應有的效果。



圖(十四) 中藥殭蠶對黑色素之透光度變化量的關係圖  
(透光度變化量=實驗組 OD<sub>400</sub> - 背景溶液 OD<sub>400</sub>)

## 陸、 討論

實驗中可看到白殭菌蠶的菌絲伸入表皮各處，且發現有許多子實體。文獻指出白殭菌分生孢子在寄主表皮或氣孔、消化道上，遇適宜條件開始萌發，生出芽管。同時產生脂肪酶、蛋白酶、幾丁質酶溶解昆蟲的表皮，由芽管入侵蟲體，在蟲體內生長繁殖，消耗寄主體內養分，形成大量菌絲和孢子，布滿蟲體全身。

從菌落顏色及孢子形狀特徵，並搭配文獻探討，本實驗使用的真菌初步鑑定為小球孢白殭菌，分類階層屬於真菌界 (*Eumycota*)、不完全菌亞門(*Deuteromcotina*)、絲孢菌綱 (*Eyphomycetes*)、叢梗孢目(*Moniliales*)、叢梗孢科(*Moriliaceae*)、白殭菌屬(*Beauveria*)。屬於不完全菌，其有性或是無性生殖階段常發生於不同時間或空間，可是我們只理解的是它們的無性型，我們也觀察到其無性型的分生孢子，若可搭配分生孢子型態觀察，對鑑定菌種會有極大幫助。

光是地球生態系最基礎的能量來源，亦是生物體重要的環境刺激因子。本實驗初步推得白殭菌的孢子萌發極可能受到紅光和藍光促進。過去十年藉由研究另一種真菌-粉色



麵包黴菌(*Neurospora crassa*)發現：藍光會調控 *N. crassa* 無性及有性之產孢過程及誘導類胡蘿蔔素(carotenoid)產生。除了藍光外，其它波長的光亦會影響真菌的生活史，以小巢狀麴菌(*Aspergillus nidulans*)為例，紅光與藍光一樣會誘導 *A. nidulans* 分生孢子的產生，此行為的控制則與 *velet* 基因及 *VeA* 蛋白有關(Kim *et al.*,2002)。

這次實驗我們也看到偏紅殭蠶有兩種顏色的菌落：白色菌落和暗紅色菌落。在色光對於不同顏色菌落的實驗裡面可知道紅光可刺激暗紅色菌落的產生，而隨著光波長增加，暗紅色菌落比例減少，藍光對抑制暗紅色菌落最為明顯。我們文獻探討後，發現這個結果和前人實驗有許多一致的地方，Miyake 等人(2005)發現不同色光對紅麴菌(*Monascus purpureus*)產生二次代謝物的影響不同，藍光可刺激胺基丁酸的合成、紅光則有助於紅色素產生，同時會刺激幾丁質產生(Miyake *et al.*,2005)。另外，關於紅麴菌(*M. purpureus*)、蟲草棒束孢(*Isaria farinosa*)、構巢裸孢殼(*Emericella nidulans*)、鐮刀菌(*Fusarium verticillioides*)及產紫青黴菌(*Penicillium purpurogenum*)等五種真菌的研究發現，於黑暗及紅光刺激下，生長最快，黃光及綠光不利於生長及色素產生，而紅光的刺激有利於 *M. purpureus* 及 *P. purpurogenum* 產生紅色色素(Velmurugan *et al.*,2010)。

在許多呈現紅色或紫紅色的真菌，都可以發現類胡蘿蔔素的代謝產物，我們推測暗紅色的菌落和胡蘿蔔素的生成有很大的關係(Baslam *et al.*,2013)。我們也查詢在文心蘭植物內的胡蘿蔔素生合成的過程中，紅光可以增強四個類胡蘿蔔素生合成相關基因的表現。以上證據都顯示光對於許多真菌，甚至白殭菌都有很重要的生理及形態的影響(劉怡君,2005)。

《本草綱目》稱：「蜜和擦面，滅黑黯好顏色，或加白牽牛，白殭蠶末，水和摻之。」聲稱白殭蠶具有去除黑斑，甚至有美白的療效。而黑色素普遍存在各種動物，許多魚類於碰到環境壓力時，例如遇到天敵等，其體色會產生明暗的變化，其原因是因為鱗片中的黑色素細胞顆粒產生移動，集中使黑色素面積減小，體色變淺。我們利用墨魚黑色素來測定白殭菌液的療效，發現黑色素在分光光度計中並利用 400nm 測量吸光值皆呈現正值，可見黑色素對 400nm 的紫外光可有效吸光。

以木蠹蛾殭蠶萃取液或純化後的白殭菌液，在加入墨魚黑色素後，結果顯示兩者皆可使黑色素減少，透光度明顯增加，這與我們的假說相符，也印證自然界取得，未經人

為加工，分解黑色素效果皆明顯增加。減少黑色素的方法包括下列兩種：(1)抑制酪胺酸酶的活性，(2)分解真黑素。而我們實驗結果指出，白殭菌菌液可明顯直接分解黑色素，進而達到美白之功效，至於白殭菌菌液是否能在細胞中抑制酪胺酸酶活性，有待其他實驗證實。

偏紅殭蠶上有青黴菌，結果顯示使黑色素有略為減少。從行政院衛生署公告的核准之藥物成分公告中，明白指出麴菌或青黴菌的發酵液中可提煉出麴酸，麴酸阻斷酪胺酸酶的活性，抑制黑色素產生，可得知市售偏紅殭蠶雖鮮少具有白殭菌，但其分泌物如麴酸的確可以影響黑色素的移動行為。另一方面，市售偏白殭蠶雖蟲體上有白殭菌，但經石灰製成，含有鹼性氫氧化鈣。許多文獻也指出鈣離子與鹼性環境會增加酪胺酸酶的活性，酪胺酸酶是黑色素生成途徑中重要的酵素。故對於黑色素而言，鈣離子的確和白殭菌有相反的功效，但是否藉由酪胺酸酶的活性促進或抑制來影響黑色素，有待進一步實驗探討。對於白殭菌與黑色素關係的研究極少，希望未來透過細胞培養實驗，可發現更多白殭菌的效用。

## 柒、 結論

- 一、 市售兩種殭蠶有偏白和偏紅兩種，前者製程有石灰處理，可培養出白殭菌；後者沒有無石灰製程，其寄生真菌有青黴菌和鍊格孢菌。其菌絲皆深入蟲體體表。
- 二、 野外採集木蠹蛾殭蠶可純化出大量白殭菌菌株。初步鑑定屬於小球孢白殭菌。
- 三、 藍光可能刺激白殭菌的孢子萌發，而黃光有反向作用。
- 四、 偏紅殭蠶上的青黴菌，在玉米培養基上有兩種顏色的菌落：暗紅色菌落以及白色菌落，以不同色光處理後，發現紅光會促進青黴菌孢子萌發，且會誘發高比例的暗紅色菌落；而藍光有抑制暗紅色菌落的效果。即可能和類胡蘿素的生成有關。
- 五、 投入白殭菌至墨魚黑色素中，可使黑色素量下降，與中藥美白除斑效果吻合。而市售經人工處理之殭蠶中，偏紅殭蠶比偏白殭蠶有黑色素抑制效果，但市售殭蠶效果不若自然白殭菌效果佳。

## 捌、 參考資料及其他

- 一、 張川虎.(2004)中草藥對抑制黑色素生合成與抗氧化活性之研究; *Studies on Inhibition of Melanogenesis and Antioxidant Capacity of Chinese Herbs.*
- 二、 劉怡君. (2005). 文心蘭黃色素生合成相關基因之選殖與分析. 臺灣大學園藝學研究所學位論文, 1-79.
- 三、 蔡勇勝, 楊芃菡, 洪德惠, 高穗生(2006).本土白殭菌(*Beauveria bassiana*)菌株之特性差異比較。植物保護學會會刊 48 : 117-128.
- 四、 Baslam, M., Esteban, R., García-Plazaola, J. I., & Goicoechea, N. (2013). Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of major carotenoids, chlorophylls and tocopherol in green and red leaf lettuces. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(7), 3119-3128.
- 五、 Galagan, J. E., Calvo, S. E., Borkovich, K. A., Selker, E. U., Read, N. D., Jaffe, D. & Rehman, B. (2003). The genome sequence of the filamentous fungus *Neurospora crassa*. *Nature*, 422(6934), 859-868.
- 六、 Kim, H. S., Han, K. Y., Kim, K. J., Han, D. M., Jahng, K. Y., & Chae, K. S. (2002). The *veA* gene activates sexual development in *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genetics and Biology*, 37(1), 72-80.
- 七、 Miyake, T., Mori, A., Kii, T., Okuno, T., Usui, Y., Sato, F. & Kariyama, M. (2005). Light effects on cell development and secondary metabolism in *Monascus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(3), 103-108.
- 八、 Velmurugan, P., Lee, Y. H., Venil, C. K., Lakshmanaperumalsamy, P., Chae, J. C., & Oh, B. T. (2010). Effect of light on growth, intracellular and extracellular pigment production by five pigment-producing filamentous fungi in synthetic medium. *Journal of bioscience and bioengineering*, 109(4), 346-350.

## 【評語】 030322

1. 本研究探討寄生於木蠹蛾殭蠶的小球孢白殭菌（真菌），其萌發受不同波長的色光影響，及其分解墨魚黑色素的能力。作品的題目名稱有趣，容易吸引讀者的目光。
2. 具系統性的真菌分離、培養及測試實驗。然相關研究已有諸多資料，較缺新穎性。
3. 本研究已初具成果，白殭菌是否能抑制酪胺酸酶的活性，則有待後續的實驗來證實。
4. 所採用的實驗設計及方法大致可行，部分實驗結果也有運用統計方法來分析或呈現所得數據，但並未比較組別之間是否具有顯著差異性。此實驗僅選取兩個菌落進行實驗，建議可選取不同菌落來進行重複實驗。
5. 鑑定上，不完全菌的分生孢子、顏色、形狀、大小及菌絲長度、寬度等需要加以描述，會更加精確。
6. 測試菌液對黑色素分解的實驗，實驗組與對照組比較標準不一致，且加入菌液 0 分鐘即有發現黑色素減少，但曲線變化不大，一直持續到 240 分鐘，有些不合理。除非菌液原本即有分解酵素，否則研究結果也難以判斷白殭菌的分解效果，有過度推論的情形。
7. 建議進行不同萃取液濃度的實驗，以確認木蠹蛾白殭液及純白殭菌液中，是否真的具有降解黑色素的成分。
8. 海報圖表清晰，口頭報告略為緊張。

## 作品海報

# 摘要

白殭菌寄生家蠶後，其菌絲深入體表層內，初步辨識為布氏白殭菌。純化菌株後，在玉米培養基上有暗紅色菌落以及白色菌落兩種，以不同色光處理後，發現紅光會促進白殭菌菌落萌發，且會誘發高比例的暗紅色菌落；而藍光有抑制暗紅色白殭菌的效果，即可能和類胡蘿素的生成有關。投入白殭菌液或木蠹蛾殭蠶萃取液至 0.17% 黑色素水溶液中，能有效使墨魚黑色素分解，另偏紅殭蠶萃取液使黑色素分解力勝於偏白殭蠶萃取液，能減少黑色素比例。

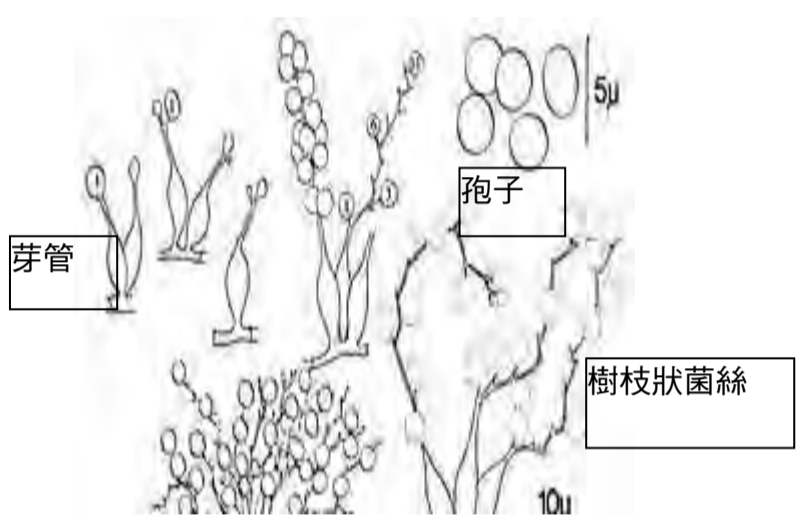
## 壹 研究動機

七年級課堂中老師有提到白殭菌容易寄生於昆蟲體內致死但對人體無害所以常應用在防治農作物病蟲害且是許多國家經常使用的生物防治方法。

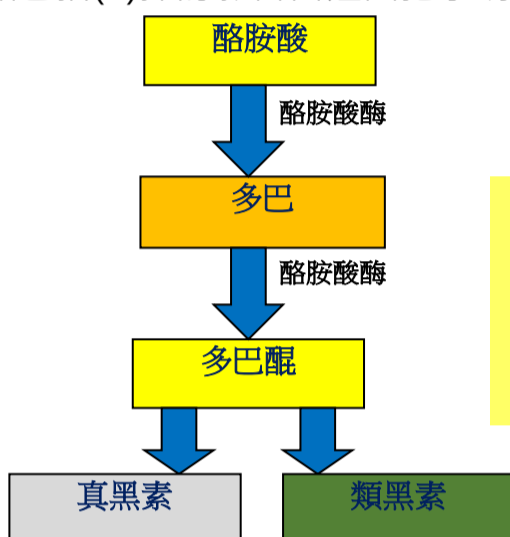
我們搜尋資料發現白殭菌的寄主非常廣泛已記錄可寄生於 5 目 24 科約 190 餘種的昆蟲的幼蟲、蛹和成蟲身上例如蚜蟲、螞蟻、蚊子、蝗蟲、蟬等均可成為它的受害者。如果可以進一步研究白殭菌的菌絲萌發影響將可提高生物防治的幫助。而許多真菌生理孢子萌發與子實體萌發色素產生都和光有關，若用不同色光處理，白殭菌是否也會有改變？這是我們想探討的問題。

白殭菌寄生於家蠶後，僵死的蠶乾燥即是著名的中藥-白殭蠶。神農本草經記載其味辛、鹹主治清風喉痹、小兒驚癇等病症。又因其色白，可治黑斑有使皮膚美白的功效。黑色素普遍存在各種生物中包括魚類的鱗片也有黑色素會有顏色的改變。黑色素又分成兩種：真黑素(eumelanin)和類黑素(pheomelanin)，前者普遍存在哺乳類皮膚中，如圖二。既然白殭蠶可能有抑制黑色素的功能，因而我們使用食物中的一種真黑素-墨魚黑色素，並利用波長 400nm 測量吸光值以量化黑色素。

由於色光會影響真菌的發育本次研究的主軸包括(1)探討影響白殭菌孢子萌發的因素(2)檢測白殭菌的美白功能。



圖一、白殭菌細部結構圖



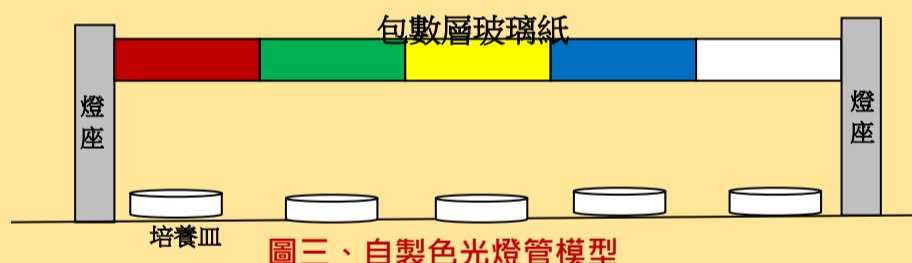
圖二、哺乳類黑色素生成途徑

## 貳 研究目的

- (一) 培養與鑑定白殭蠶的寄生菌種。
- (二) 不同波長的光對白殭菌萌發的影響。
- (三) 探討白殭菌液對於分解墨魚黑色素之能力。

## 參 研究設備與器材

- 一、白殭菌的培養與鑑定：白殭蠶數隻、複式顯微鏡。
- 二、色光對白殭菌生長之影響
  - (一) 實驗器材：玉米粉、洋菜粉、燒杯、太陽能秤、玻棒、酒精燈三腳架、陶瓷纖維網、純水、培養皿、酒精 75%、藥匙、石蠟膜。
  - (二) 自製設備：紅、綠、黃、藍、白色玻璃紙各數張、燈管。



圖三、自製色光燈管模型

- 三、白殭菌對黑色素之影響
  - 數種殭蠶半隻、微量天平、墨魚黑色素(0.05 克)、分光光度計、石英管、試管、研鉢、微量吸量器。

## 肆 研究過程與方法

### 一、玉米粉培養基製做與白殭菌菌落生長測試

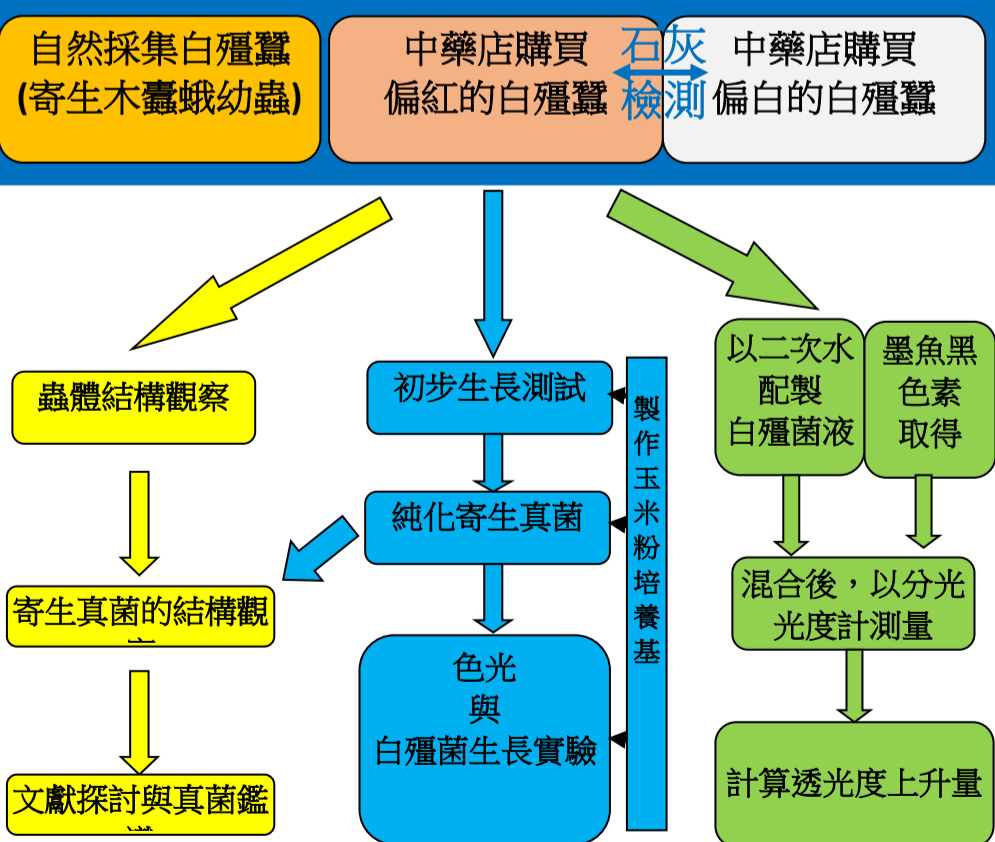
- (一) 以 70% 酒精清洗各種容器。
  - (二) 玉米粉 10 g、洋菜粉 5 g、加入 310 g 無菌水，以玻棒攪拌。
  - (三) 以酒精燈加熱，並持續攪拌，至其沸騰，重複以上動作兩次。
  - (四) 將其液體平均倒入 5 個培養皿中，將其放至陰涼處靜置兩日。
  - (五) 以研鉢磨半隻白殭蠶加入 100 g 無菌水。
  - (六) 取 2 ml 白殭菌液加 18 ml 無菌水稀釋並塗布在培養基上
  - (七) 觀察數天並記錄各培養基菌落生長情形。
- ### 二、純化菌株與色光對白殭菌生長之影響
- (一) 將上述生長測試的菌落以解剖針挑起並輕劃至新培養皿表面上。
  - (二) 製作玉米粉培養基數個。
  - (三) 靜置兩天包上石蠟膜。
  - (四) 將步驟(一)純化的白殭菌株挑起以複式顯微鏡觀察。
  - (五) 鏡檢確認具菌絲及分生孢子結構後加入 50 ml 的無菌水。
  - (六) 將上述溶液取 2ml 滴在培養基上。
  - (七) 將培養基包上石蠟膜。
  - (八) 打開自製燈管並以玻璃紙包裹調整光度使色光強度差異最小。
  - (九) 將培養基分別置於五種色光(紅、綠、藍、黃、白)下並定期紀錄。

### 三、白殭菌對色素之影響實驗

- (一) 以 70% 酒精消毒所有器具。
- (二) 配製 0.5% 黑色素母液：微量天平量取 0.05g 黑色素+10mL 二次水。
- (三) 配置下列組別：

組別	配置方式
偏白殭蠶萃取液	偏白殭蠶粉 0.00175g +10mL 二次水+5mL 黑色素母液
偏紅殭蠶萃取液	偏紅殭蠶粉 0.00175g +10mL 二次水+5mL 黑色素母液
木蠹蛾殭蠶萃取液	木蠹蛾殭蠶粉 0.00175g+10mL 二次水+5mL 黑色素母液
純化白殭菌液	純化白殭菌落 2 個 +10mL 二次水+5mL 黑色素母液
對照組: 黑色素水溶液	10mL 二次水+5mL 黑色素母液 (相當於 0.17% 黑色素)

- (四) 將分光光度計的光波設定到 400nm。
- (五) 將二次水加入石英管中設定此為空白液，再把亮面對準射光口，確認其透光度，設定為 blank。(途中若石英管上有雜質，以拭淨紙擦拭)
- (六) 用二次水清洗石英管。
- (七) 各實驗組用微量吸管加入黑色素水溶液，並均勻搖晃，並放入分光光度計測量，分別於 0 秒、30 分鐘、60 分鐘、120 分鐘、240 分鐘測量其透光度。
- (八) 以上實驗重複三次，並將結果記錄下來。



圖四、實驗流程架構圖



圖五、實驗步驟

# 伍 研究結果

	外觀	粉末	粉末溶於水	上清液滴廣用試紙	吐入 CO <sub>2</sub> 後再加醋酸
偏紅殭蠶		 較易磨碎，粉末偏紅棕色。	 有沉澱，上清液偏紅	 pH5~6	 無冒泡，較澄清
偏白殭蠶		 有硬塊不易磨碎，粉末偏白棕色。	 有沉澱，上清液偏淺	 pH6~7	 冒泡較混濁 (表示有石灰)

△圖(六)、比較市售偏紅殭蠶及偏白殭蠶，並檢測石灰成分

▽圖(八)、市售殭蠶與木蠹蛾殭蠶蟲體切面圖(解剖顯微鏡 40X)



圖(七)、野外白千層樹皮內的木蠹蛾殭蠶

	偏紅殭蠶	偏白殭蠶	木蠹蛾殭蠶
蟲體剖面圖			

	偏紅殭蠶	偏白殭蠶	木蠹蛾殭蠶
純化菌落型態	 紅色與棕色小菌落	 有白色菌絲。菌落數偏少。	 有白色菌絲。菌落數偏少。
50X 觀察純化菌落	 青黴菌(上) 鍊格胞菌(下)	 白殭菌	 白殭菌

圖(九)、三種殭蠶蟲體上真菌純化菌落與真菌結構圖(複式顯微鏡 600X)  
(箭頭所指為白殭菌芽管膨大構造)

## 一、白殭菌的培養與辨識

### (一) 蟲體切面觀察

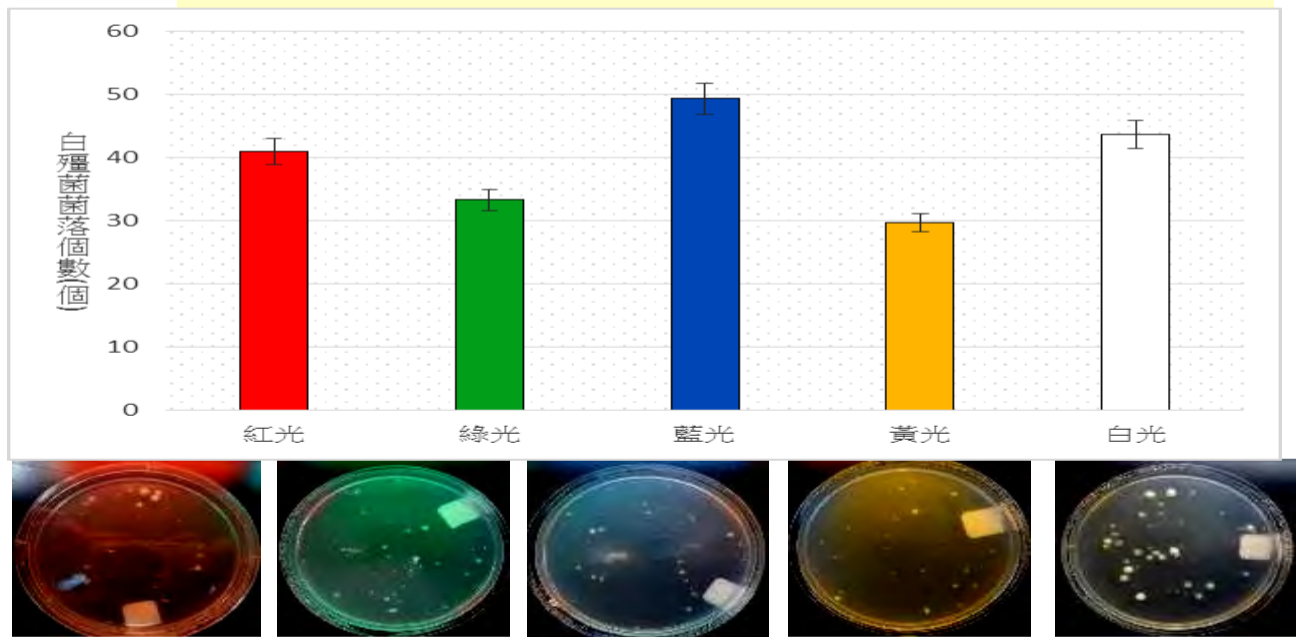
我們到附近中藥行購得數條殭蠶，發現有兩種顏色的殭蠶：偏紅色殭蠶與偏白色殭蠶，體長皆 6~8 公分，拍攝照片如圖(六)。詢問店家相關製備過程，兩者皆取自被白殭菌寄生死亡的家蠶 (*Bombyx mori*)，家蠶屬，蠶蛾科，鱗翅目，乾燥而得。同時，野外有許多白殭菌寄生的蟲體，發現白千層樹皮中，如圖(七)，有許多已白殭寄生之蛾幼蟲，長度約 1~2 公分，呈灰白色，經探討後為木蠹蛾之幼蟲。

### (二) 純化菌株與菌體辨識

將殭蠶磨粉加無菌水，以無抗生素培養基培養，再將各種不同型態的單一菌落劃至有抗生素(1% Chloramphenicol)的玉米粉培養基。純化後的菌種以複式顯微鏡觀察細部結構，結果如圖(九)。從偏白殭蠶與木蠹蛾殭蠶可純化出白色菌落，兩者菌絲為樹枝狀，且有芽管(如圖九黑色箭頭)，因此認為寄生兩種殭蠶的真菌皆白殭菌。而偏紅殭蠶身上所純化出的菌落大部分為暗紅色，且其中所含的真菌可分為：(1)菌絲為筆狀體，且分生孢子為掃帚狀，可能是 *Penicillus*(青黴菌)。(2)孢子為黑色鍊狀，可能為 *Alternaria*(鍊格胞菌)，經文獻探討，青黴菌會分泌紅色色素，我們推測這是導致紅殭體呈紅色的原因。中藥行購來的偏紅殭蠶純化出的菌種並非白殭菌，可能大多白殭菌的孢子在製備過程裡失去活性。另經文獻探討，本實驗白殭菌菌落呈現白色絨毛狀，孢子為球形，較接近小球胞白殭菌。

### (三) 不同濃度白殭菌液的生長測試

將白殭蠶磨碎後加入無菌水再塗布到玉米培養基上，發現 0.00175 克重的蟲粉/100 ml 無菌水的比例，其生長效果最佳。



圖(十)、白殭菌菌落總數與各色光處理之關係圖

## 二、探討不同色光對殭菌孢子萌發數量之影響

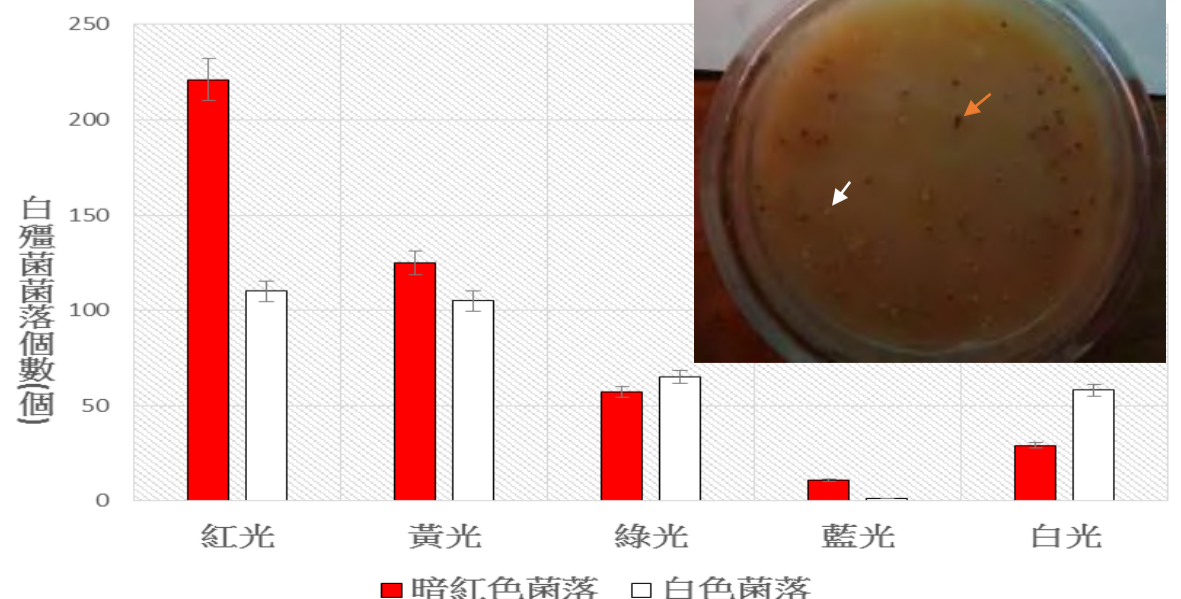
我們設計同一燈管，分成五個等長區域，以不同顏色玻璃紙包住燈管，使燈管呈五種顏色：紅、綠、藍、黃、白。另外用光度檢測儀，結果落於 910~780 流明。證實各色光光度無太大差異，且長時間照射，各色光仍可維持較一致的光量。

### (一) 各色光與白殭菌菌落總數量的生長關係

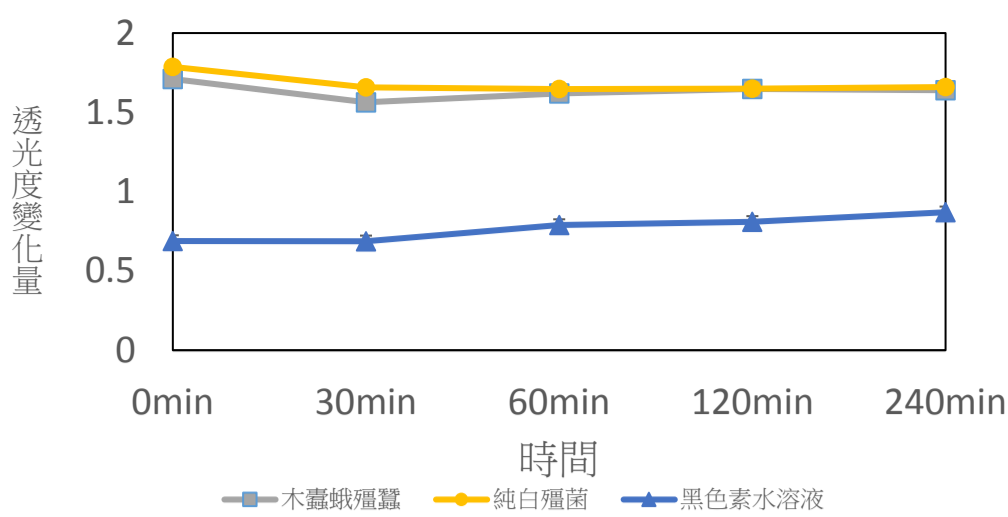
黑暗中取經純化的白殭菌菌落 2 個，混合 10 ml 的無菌水後大力搖晃，再取 1ml 菌液塗布在添加抗生素的玉米粉培養基，三天內計算其菌落，計數如圖(十)所示。圖中得知在藍光下的白殭菌孢子萌發率較高，而白光和紅光則為其次，綠光與黃光則為最少菌落的，與藍光差了約 1.6 倍，經三重複皆相同色光與菌落數的趨勢。

### (二) 各色光與青黴菌菌落總數量的生長關係

從偏紅殭蠶身上的寄生真菌，經純化得到青黴菌菌落，取青黴菌以不同色光處理，相同菌液量下重覆三次，計算菌落數。圖中可以知道紅光下生長的青黴菌菌落總數最多，藍光生長的青黴菌菌落總數最少，相差比例高達 64 倍。初步結果可推得色光差異的確影響青黴菌萌發，其中紅光可促進，藍光抑制菌落形成。我們發現有兩種顏色的青黴菌菌落：暗紅色和白色，如圖(十一)所示。我們觀察到不論何種色光處理，都可看到有暗紅色的菌落和白色菌落兩種，計算兩種菌落數量，繪製如圖(十一)。圖中可顯示紅光處理下，暗紅色菌落比例偏高(約 2 倍)，而隨著色光波長增加，其暗紅色菌落比例減少，在黃光和綠光處理下，兩種菌落數約接近 1:1。而白光照射下，白色菌落比例偏高。初步推論紅光處理可促進暗紅色菌落的誘發，而白光較易誘發白色菌落產生。可見暗紅色菌落與白色菌體內，即有可能具有類似感光色素，感應紅光或藍光，進而誘導或抑制色素的產生。



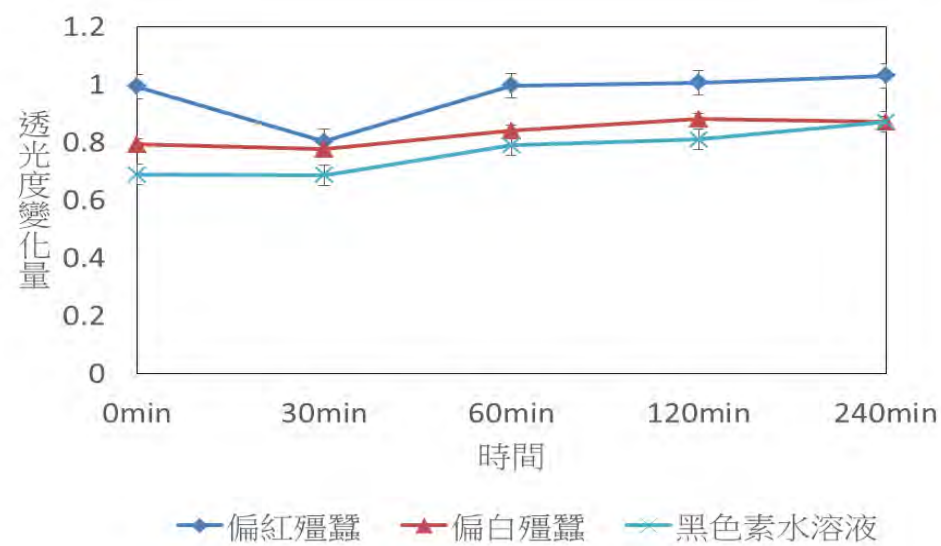
圖(十一)、偏紅殭蠶上的青黴菌菌落有紅白兩種顏色，其菌落數與色光關係圖(箭頭所指為兩種顏色菌落)



圖(十三) 自然孳蠶(菌)對黑色素之透光度變化量的關係圖

(透光度變化量=實驗組 OD<sub>400</sub> - 背景溶液 OD<sub>400</sub>)

0分鐘時，實驗組的兩者萃取液，與對照組有明顯差異，且明顯有上升約 1.1 的透光度 OD<sub>400</sub> 值，證實了本草綱目中白孳菌有使黑色素減少的現象。0~30分鐘時，兩實驗組的變化量最大，然而於 60 至 240 分鐘時，兩者的波動幅度趨於平緩，推測白孳菌的活性可能隨時間而減弱，其中 0~60 分鐘時的效果最好。



圖(十四) 中藥孳蠶對黑色素之透光度變化量的關係圖

(透光度變化量=實驗組 OD<sub>400</sub> - 背景溶液 OD<sub>400</sub>)

偏紅孳蠶組在 0min 時，與對照組有些許的差異，而在 0-30min 時，變化量則漸漸趨近於對照組，30-240min 的變化趨勢則與對照組有相同的趨勢，因此我們認為，在 0min 時，偏紅孳蠶上的白孳菌有最大的效果，隨著時間則慢慢消失。而偏白孳蠶組的變化量在 0min 時，與對照組僅有微量的差異，接著 30-240min 時，變化的趨勢也隨著對照組而改變，我們認為，這是因為偏白孳蠶在製作過程中加入了石灰，因此破壞了白孳菌的活性，導致偏白孳蠶失去了白孳菌應有的效果。

## 陸 討論

這次實驗我們也看到白孳菌有兩種顏色的菌落：白色菌落和暗紅色菌落。在色光對於不同顏色菌落的實驗裡面可知道紅光可刺激暗紅色菌落的產生，而隨著光波長增加，暗紅色菌落比例減少，藍光對抑制暗紅色菌落最為明顯。我們文獻探討後，發現這個結果和前人實驗有許多一致的地方，Miyake 等人(2005)發現不同色光對紅麴菌(*Monascus purpureus*)產生二次代謝物的影響不同，藍光可刺激胺基丁酸的合成、紅光則有助於紅色素產生，同時會刺激幾丁質產生。另外，關於紅麴菌(*M. purpureus*)、蟲草棒束孢(*Isaria farinosa*)、構巢裸孢殼(*Emericella nidulans*)、鐮刀菌(*Fusarium verticillioides*)及產紫青黴菌(*Penicillium purpurogenum*)等五種真菌的研究發現，於黑暗及紅光刺激下，生長最快，黃光及綠光不利於生長及色素產生，而紅光的刺激有利於 *M. purpureus* 及 *P. purpurogenum* 產生紅色色素。

在許多呈現紅色或紫紅色的真菌，都可以發現類胡蘿蔔素的代謝產物，我們推測暗紅色的菌落和胡蘿蔔素的生成有很大的關係。我們也查詢在文心蘭植物內的胡蘿蔔素生合成的過程中，紅光可以增強四個類胡蘿蔔素生合成相關基因的表現。以上證據都顯示光對於許多真菌，甚至白孳菌都有很重要的生理及形態的影響。

《本草綱目》稱：「蜜和擦面，滅黑黯好顏色，或加白牽牛，白孳蠶末，水和摻之。」聲稱白孳蠶具有去除黑斑，甚至有美白的療效。我們利用墨魚黑色素來測定白孳菌液的療效，發現黑色素在分光光度計中並利用 400nm 測量吸光值皆呈現正值，可見黑色素對 400nm 的紫外光可有效吸光。

以木蠹蛾孳蠶萃取液或純化後的白孳菌液，在加入墨魚黑色素後，結果顯示兩者皆可使黑色素減少，透光度明顯增加，這與我們的假說相符，也印證自然界取得，未經人為加工，分解黑色素效果皆明顯增加。減少黑色素的方法包括下列兩種：(1)抑制酪胺酸酶的活性，(2)分解真黑素。而我們實驗結果指出，白孳菌菌液可明顯直接分解黑色素，進而達到美白之功效，至於白孳菌菌液是否能在細胞中抑制酪胺酸酶活性，有待其他實驗證實。

偏紅孳蠶上有青黴菌，結果顯示使黑色素有略為減少。從行政院衛生署公告的核准之藥物成分公告中，明白指出麴菌或青黴菌的發酵液中可提煉出麴酸，麴酸阻斷酪胺酸酶的活性，抑制黑色素產生，可得知市售偏紅孳蠶雖鮮少具有白孳菌，但其分泌物如麴酸的確可以影響黑色素生成。另一方面，市售偏白孳蠶雖蟲體上有白孳菌，但經石灰製成，含有鹼性氫氧化鈣。許多文獻也指出鈣離子與鹼性環境會增加酪胺酸酶的活性，酪胺酸酶是黑色素生成途徑中重要的酵素。故對於黑色素而言，鈣離子的確和白孳菌有相反的功效，但是否藉由酪胺酸酶的活性促進或抑制來影響黑色素，有待進一步實驗探討。對於白孳菌與黑色素關係的研究極少，希望未來透過細胞培養實驗，可發現更多白孳菌的效用。

## 柒 結論

- 一、市售兩種孳蠶有偏白和偏紅兩種，前者製程有石灰處理，可培養出白孳菌；後者沒有無石灰製程，其寄生真菌有青黴菌和鏈格孢菌。其菌絲皆深入蟲體體表。
- 二、野外採集木蠹蛾孳蠶可純化出大量白孳菌菌株。初步鑑定屬於小球孢白孳菌。
- 三、藍光可能刺激白孳菌的孢子萌發，而黃光有反向作用。
- 四、偏紅孳蠶上的青黴菌，在玉米培養基上有兩種顏色的菌落：暗紅色菌落以及白色菌落，以不同色光處理後，發現紅光會促進青黴菌孢子萌發，且會誘發高比例的暗紅色菌落；而藍光有抑制暗紅色菌落的效果。即可能和類胡蘿蔔素的生成有關。
- 五、投入白孳菌至墨魚黑色素中，可使黑色素量下降，與中藥美白除斑效果吻合。而市售經人工處理之孳蠶中，偏紅孳蠶比偏白孳蠶有黑色素抑制效果，但市售孳蠶效果不若自然白孳菌效果佳。

## 捌 參考資料

- 一、Miyake, T., Mori, A., Kii, T., Okuno, T., Usui, Y., Sato, F. & Kariyama, M. (2005). Light effects on cell development and secondary metabolism in *Monascus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(3), 103-108.
- 二、Kim, H. S., Han, K. Y., Kim, K. J., Han, D. M., Jahng, K. Y., & Chae, K. S. (2002). The veA gene activates sexual development in *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genetics and Biology*, 37(1), 72-80.
- 三、Velmurugan, P., Lee, Y. H., Venil, C. K., Lakshmanaperumalsamy, P., Chae, J. C., & Oh, B. T. (2010). Effect of light on growth, intracellular and extracellular pigment production by five pigment-producing filamentous fungi in synthetic medium. *Journal of bioscience and bioengineering*, 109(4), 346-350.
- 四、蔡勇勝，楊芃苳，洪德惠，高穗生(2006).本土白孳菌(*Beauveria bassiana*)菌株之特性差異比較。植物保護學會會刊 48：117-128.