

中華民國第 58 屆中小學科學展覽會  
作品說明書

---

國中組 生活與應用科學(二)科

第三名

032907

落葉歸根

~落葉上的菌種對纖維素分解能力的研究

學校名稱：南投縣立旭光高級中學(國中部)

作者： 國二 周雋宸	指導老師： 陳松禮 許碧蕙
---------------	---------------------

關鍵詞：落葉堆肥、微生物分解、纖維素

## 摘要

清掃校園時發現乾枯葉片中有許多不同形狀及不同顏色的斑點，閱讀相關文獻後，發現它們是微生物，可以分解落葉，為了更進一步了解這些微生物的作用，我自製搖晃培養儀、恆溫培養箱、LB 培養液 (基)、馬鈴薯培養液 (基)，以培養多樣菌種。經過一連串純化培養後，共篩選出 10 個菌種，進行纖維素分解及落葉分解實驗。研究結果顯示由馬鈴薯培養基篩選出來的 2 號菌、3 號菌及 4 號菌可以將纖維素分解成澱粉或葡萄糖；在落葉堆肥實驗中，2 號菌及 4 號菌皆能有效進行落葉分解，其中 2 號菌對印度橡膠葉的分解效果遠優於市售菌。送生技公司檢驗後，確認 2 號菌為 *Rhizopus oryzae*(米根黴菌)，它不但是釀酒幫手，更是落葉分解高手。

## 壹、研究動機

每次清掃校園時，總對成堆的落葉感到好奇，好奇它們為何能在幾個月後分解在土壤中？在生物課中老師提到的生態塔的構成，其中微生物就扮演著分解者的角色。仔細觀察校園落葉堆肥區的葉子上，發現有各種顏色的菌落，它們到底是如何進行分解呢？這樣的好奇心下開始我對落葉菌種的研究。搜尋相關文獻，發現菌種培養需要搖晃儀及恆溫箱，但是學校沒有這些設備，所以我利用身邊的資源，將小腿搖擺機加上收納箱變成搖晃培養箱，並透過電腦程式設計恆溫培養箱，接著開始進行實驗。一開始培養時發現培養皿容易受汙染，所以在培養單一菌種上遇到困難，後來改用高壓蒸氣鍋消毒器具及煮培養液(基)，並在紫外線烘碗機中進行菌種培養後，才讓實驗持續進行。我共測試了 10 種菌種，進行了培養液中落葉分解實驗、甲基纖維素分解實驗，最後選擇了生長速度較快的菌種來分解落葉，藉此找出有效的落葉分解菌，提昇落葉分解的速度。

## 貳、研究目的與架構

- 一、利用不同培養液(基)篩選不同菌種。
- 二、從落葉中取出不同菌種並純化培養。
- 三、測試不同菌種對落葉的分解程度。
- 四、研究不同菌種對甲基纖維素的分解程度。
- 五、比較自培菌與市售菌對落葉分解效率的差異。

# 落葉歸根~落葉上的菌種對纖維素分解能力的研究

【研究一】利用不同培養液(基)篩選不同菌種

搜尋資料並了解不同培養條件下培養菌種的差異

LB 培養液(基)  
(目標：培養細菌)

馬鈴薯葡萄糖培養液(基)  
(目標：培養放線菌 枯草桿菌)

馬鈴薯蔗糖培養液(基)  
(目標：培養真菌)

【研究二】從落葉中取出不同菌種並純化培養

野外觀察及自製恆溫箱培養拍照記錄

落葉取菌

畫碟培養

【研究三】測試不同菌種對落葉的分解程度

【研究四】研究不同菌種對甲基纖維素的分解程度

自製搖晃培養箱培養並定期測量及記錄

OD 值

pH 值

溫度

外觀

分解纖維素檢測

澱粉檢測

葡萄糖檢測

【研究五】比較自培菌與市售菌對落葉分解效率的差異

定期測量並拍照記錄

pH 值

溫度

外觀

氣味

結論

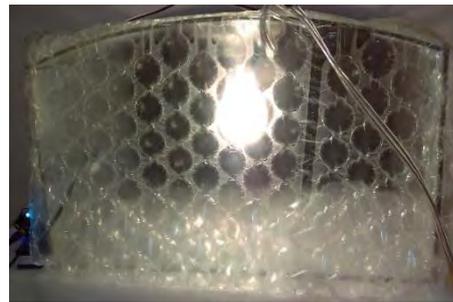
## 參、研究設備及器材

### 一、實驗器材

#### (一)電子器材

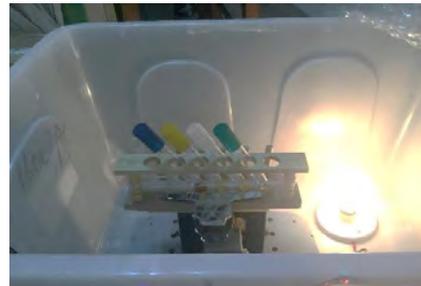
##### A.自製恆溫箱

1. 準備 40\*27\*20 公分玻璃魚缸，並於外部包覆保溫的泡泡紙。
2. 將燈泡的電線剪斷，接於底座中，並接上繼電器。
3. 用排線將 arduino 板接上繼電器和溫濕感應器。
4. 連結 webduino 網頁，並以程式積木的方式完成恆溫控制模式的設定。
5. 燈泡會隨溫度而自動開關，例如設定溫度為 27°C~29°C 之間時，當溫度低於 27°C，燈泡會自動亮起；當溫度高於 29°C，燈泡會自動熄滅。



##### B.自製搖晃培養箱

- 1.將小腿搖擺機的頂部打開，重新整理後留下馬達及平台，並於平台夾上試管架，檢測馬達左右搖晃速度(約 150 次/分)，之後將搖晃儀放入大型收納箱。
- 2.將燈泡的電線剪斷，接於底座中，並接上繼電器。
- 3.用排線將 arduino 板接上繼電器和溫濕感應器。
- 4.連結 webduino 網頁，並以程式積木的方式完成恆溫控制模式的設定。
- 5.燈泡會隨溫度而自動開關，例如設定溫度為 27°C~29°C 之間，當溫度低於 27°C，燈泡會自動亮起；當溫度高於 29°C，燈泡會自動熄滅。

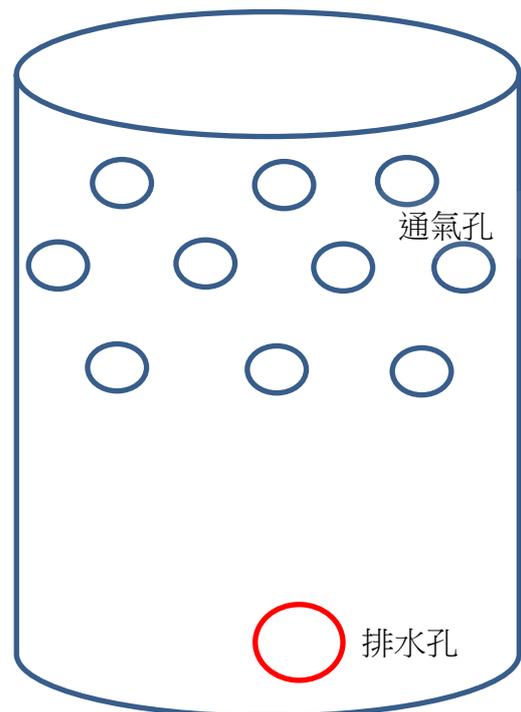
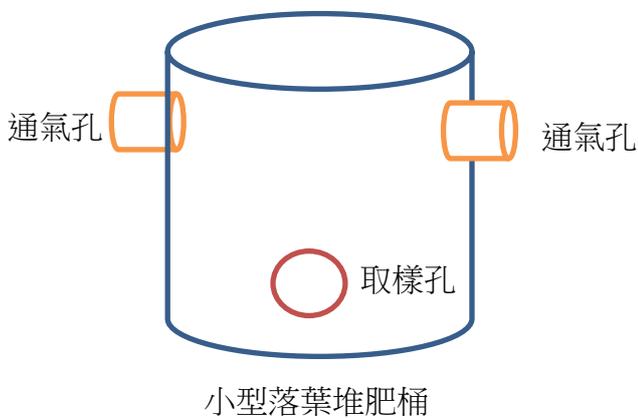


- C.分光光度計：用以測驗菌種 OD 值變化情形。
- D.pH 值檢測計：用以測量菌種 pH 值的變化情形。
- E.解剖顯微鏡：用以觀察菌落生長外觀及特徵。
- F.紫外線烘碗機：用以消毒及進行菌種培養。



## (二)其他器材

- 1.培養液(基)製作：LB LENNOX BROTH(LB 培養基)、LB Agar、馬鈴薯、葡萄糖、蔗糖、培養皿、高壓蒸氣鍋、塑膠培養皿、玻璃瓶。
- 2.菌種培養：接種環、酒精燈、培養基、試管架。
- 3.菌種生長測試：微量滴管、石英管、滅菌玻璃試管、試管塞、試管架、75%酒精。
- 4.纖維素分解測試：甲基纖維素、本氏液、碘液、玻璃試管、玻璃杯、酒精燈。
- 5.落葉堆肥實驗：
  - (1)小型堆肥：小塑膠桶、水管接頭、剪碎落葉、米糠、破布、橡皮筋、不同菌液。
  - (2)大型堆肥：大型塑膠桶、水管接頭、漂白水、剪碎落葉、米糠、電鑽(打洞用)、不同菌液。



## 肆、研究過程及方法

### 【研究一】利用不同培養液(基)培養不同菌種

#### (一)LB 培養液(基)製作

- 1.取 5 克的 LB 粉(LB LENNOX BROTH)，並加入 245ml 水，均勻搖晃至粉末溶解(若要做成培養基，則另外加入 3.75g 的 Agar)。
- 2.貼上滅菌帶，放入高壓蒸氣鍋煮 30 分鐘。
- 3.待壓力鍋壓力下降後即可取出放涼，培養液放入 4°C 冰箱備用，培養基則倒入塑膠培養皿中，待凝固後即可放入 4°C 冰箱備用。

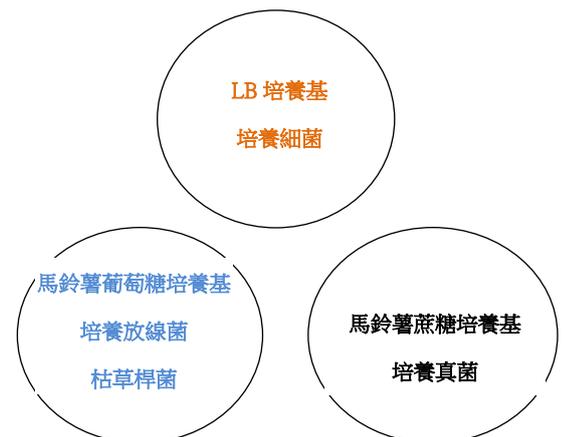
#### (二)馬鈴薯培養液(基)製作

- 1.取 200g 去皮後的馬鈴薯，切成小塊後加水至 1000c.c.。
- 2.加熱煮沸 30 分鐘後，過濾大塊的馬鈴薯顆粒，並補水到 1000C.C.。
- 3.將馬鈴薯溶液以濾紙進行過濾後，各取 500c.c.裝在玻璃罐中。
- 4.接著分別加入 10g 蔗糖或葡萄糖(若要做成培養基，則另外各加入 5g 的 Agar)。
- 5.貼上滅菌帶，放入高壓蒸氣鍋煮 30 分鐘。
- 6.待壓力鍋壓力下降後即可取出放涼，培養液放入 4°C 冰箱備用，培養基則倒入塑膠培養皿中，待凝固後即可放入 4°C 冰箱備用。



#### (三)不同培養基培養不同的菌種

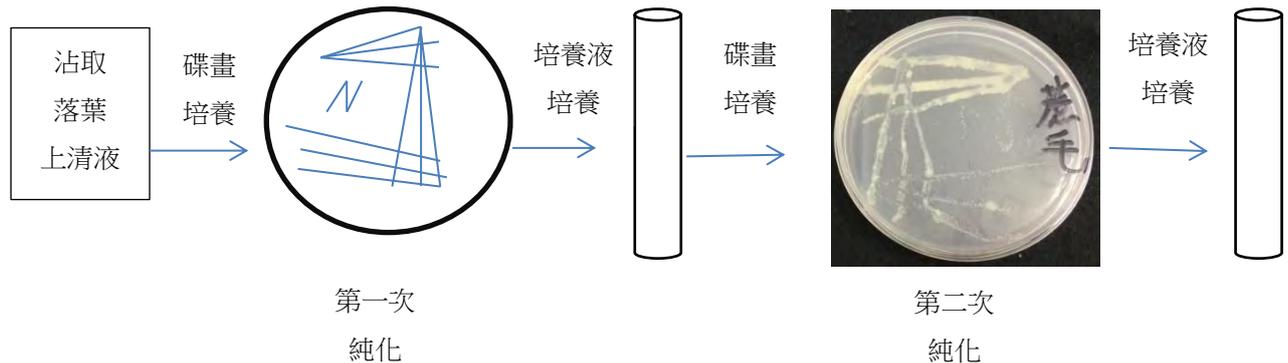
- 1.LB 培養液(基)：培養細菌。
- 2.馬鈴薯葡萄糖培養液(基)：培養放線菌或枯草桿菌
- 3.馬鈴薯蔗糖培養液(基)：培養真菌。



### 【研究二】從落葉中取出不同菌種並純化培養

- 1.取校園中 5 克的落葉剪碎，放入透明塑膠罐中，並加入 50 克的清水混合，接著放在搖晃機上搖晃 20 分鐘。
- 2.將塑膠罐取出，並用接種環沾取上清液，以畫碟法的方式分別畫在 LB 培養基、馬鈴薯培養基上。

- 3.將上述培養基放入 27°C~29°C 恆溫箱中培養 24~48 小時後，觀察菌落生長情形。
- 4.分別在不同培養基 Z 字型菌落上挑選外觀、大小、色澤不同的單一菌落，並用接種環將菌挑起放入 5 毫升的不同培養液中，放入搖晃儀培養 24~48 小時後檢測 OD 值及 pH 值。
- 5.挑選生長速度較快的組別重複步驟 2~4，進行二次純化培養。
- 6.最後挑選了 LB 培養液 6 個菌種，馬鈴薯(葡)培養液 3 個菌種，馬鈴薯(蔗)培養液 1 個菌種，共計 10 個菌種，準備進行【研究三】的實驗。



### 【研究三】測試不同菌種對落葉的分解程度

#### (一) 菌液分解落葉實驗設計

##### A. 上清液製作

- 1.取 50g 落葉剪碎後加上 200g 水，放入果汁機中打碎。
- 2.將落葉液以濾網過濾，並倒至玻璃瓶中靜置 20 分鐘。
- 3.以微型滴管取上清液放入玻璃瓶中，貼上滅菌帶，再放入壓力鍋煮 30 分鐘。
- 4.待壓力鍋壓力下降後即可取出放涼，放入 4°C 冰箱備用。

##### B. 落葉樣本製作

- 1.將落葉清洗乾淨後，以尺量出 4\*4mm 面積剪下備用。
- 2.以解剖顯微鏡觀察落葉樣本及編碼，並以平板拍照備用。
- 3.將落葉樣本分別包在鋁箔紙中，一同放入壓力鍋中煮 30 分鐘。
- 4.待壓力鍋壓力下降後即可取出放涼，準備進行實驗。



##### C. 菌種生長情形檢測

- 1.取出消毒的試管，並貼上編號。
- 2.依據不同實驗設計，分別將上清液、不同菌液、LB 培養基或水

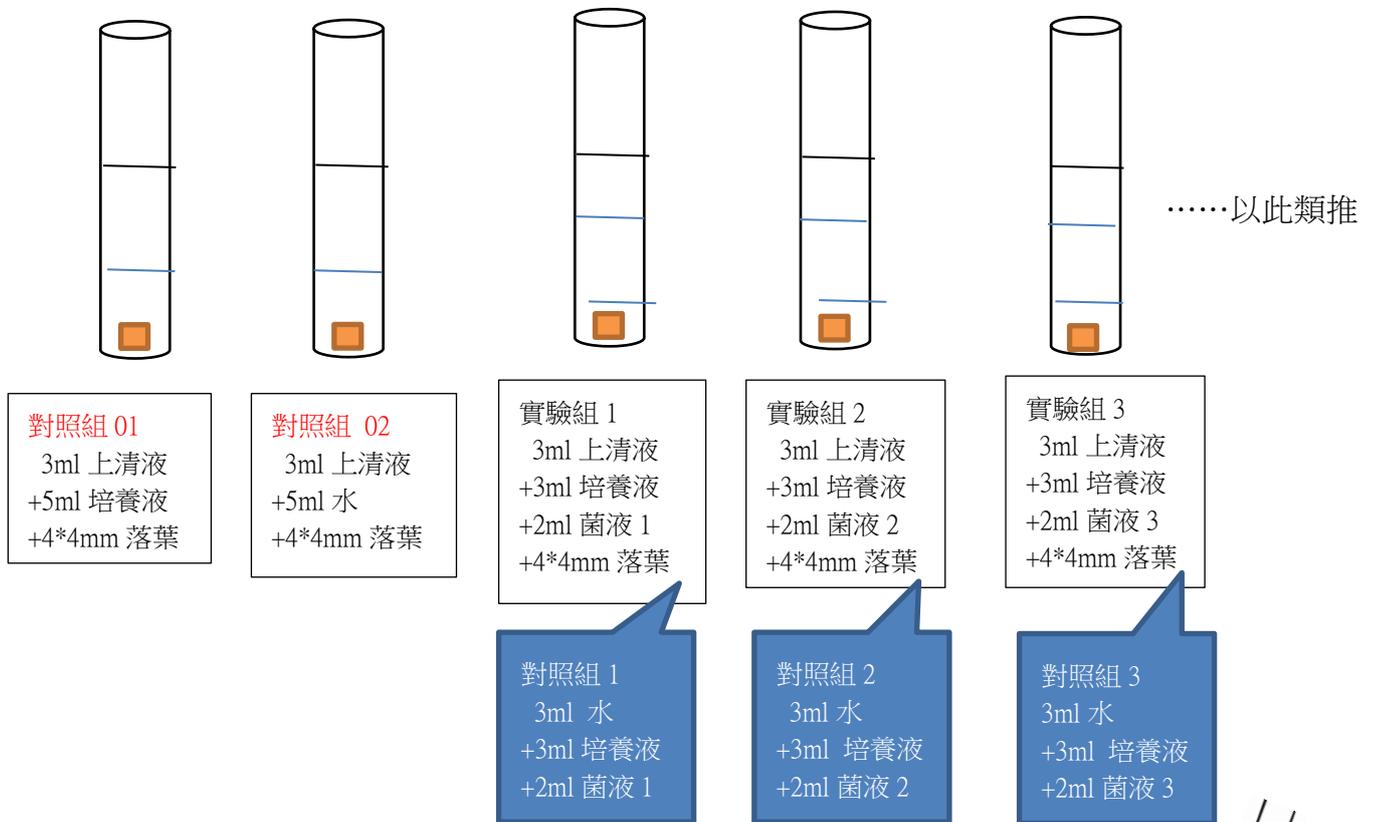


加入試管中。

3.將落葉樣本放入試管中。

4.將調配好的試管放入搖晃機進行搖晃，每兩天檢測溫度、OD 值及 pH 值，共計 6 天。

D.重複實驗：依據步驟 ABC 進行二重複實驗。



## (二) 不同菌種分解纖維素的檢測

### A. 澱粉檢測

- 1.取 1C.C.碘液，稀釋成 1/10 濃度，並將 2C.C.稀釋後的碘液放入試管中備用。
- 2.以微型滴管取 6 天培養後的菌液各 1C.C，分別滴入裝有碘液的試管中。
- 3.觀察菌液滴入碘液中的顏色變化，並拍照記錄。



### B. 葡萄糖檢測

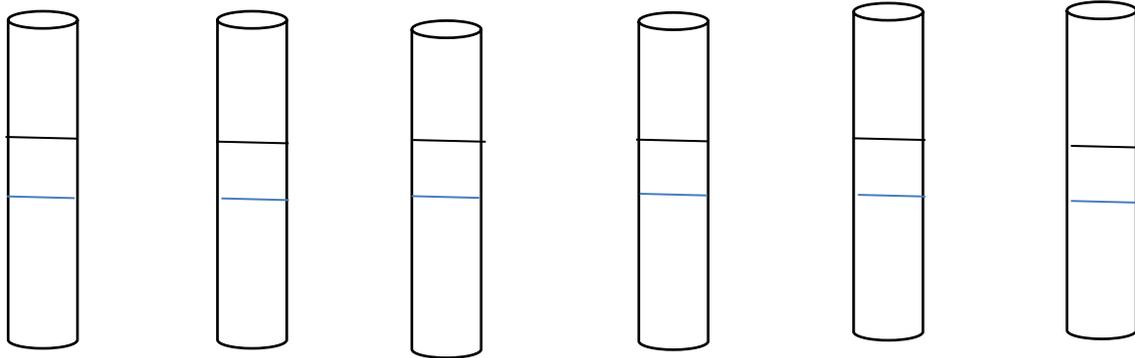
- 1.以微型滴管取 6 天培養後的菌液各 1C.C，分別滴入試管中，並各加入 1C.C.的清水。
- 2.將 0.5C.C.的本氏液分別滴入上述試管中，並搖晃均勻。
- 3.將上述試管放入燒杯中，以隔水加熱方式加熱至 55°C。
- 4.觀察試管中溶液的顏色變化，並拍照記錄。



## 【研究四】研究不同菌種對甲基纖維素的分解程度

### (一)菌液分解甲基纖維素實驗設計

- 1.將 0.5 克的甲基纖維素加到 99.5 克的水中，並放入玻璃瓶中。
- 2.貼上滅菌帶，放入高壓蒸氣鍋煮 30 分鐘。
- 3.依據不同實驗設計，分別將甲基纖維素溶液、菌液、馬鈴薯培養液加入試管中。
- 4.將調配好的試管放入搖晃機中進行搖晃，每兩天檢測溫度、OD 及 pH 值，共計 6 天。
- 5.依據步驟 2~4 進行二重複實驗。



#### 對照組 1

6ml 甲基纖維素  
+2ml 馬(葡)培養液

#### 對照組 2

6ml 甲基纖維素  
+2ml 馬(蔗)培養液

#### 實驗組 1

6ml 甲基纖維素  
+2ml 菌液 1

#### 實驗組 2

6ml 甲基纖維素  
+2ml 菌液 2

#### 實驗組 3

6ml 甲基纖維素  
+2ml 菌液 3

#### 實驗組 4

6ml 甲基纖維素  
+2ml 菌液 4

### (二)不同菌種分解甲基纖維素的檢測

#### A.澱粉檢測

- 1.取 1C.C.碘液，稀釋成 1/10 濃度，並將 2C.C.稀釋後的碘液放入試管中備用。
- 2.以微型滴管取 6 天培養後的菌液各 1C.C，分別滴入裝有碘液的試管中。
- 3.觀察菌液滴入碘液中的顏色變化，並拍照記錄。

#### B.葡萄糖檢測

- 1.以微型滴管取 6 天培養後的菌液各 1C.C，分別滴入試管中，並各加入 1C.C.的清水。
- 2.將 0.5C.C.的本氏液分別滴入上述試管中，並搖晃均勻。
- 3.將上述試管放入燒杯中，以隔水加熱方式加熱至 55°C。
4. 觀察試管中溶液的顏色變化，並拍照記錄。

## 【研究五】比較自培菌與市售菌對落葉分解效率的差異

### (一)小型堆肥桶實驗

#### A.菌種篩選及大量培養

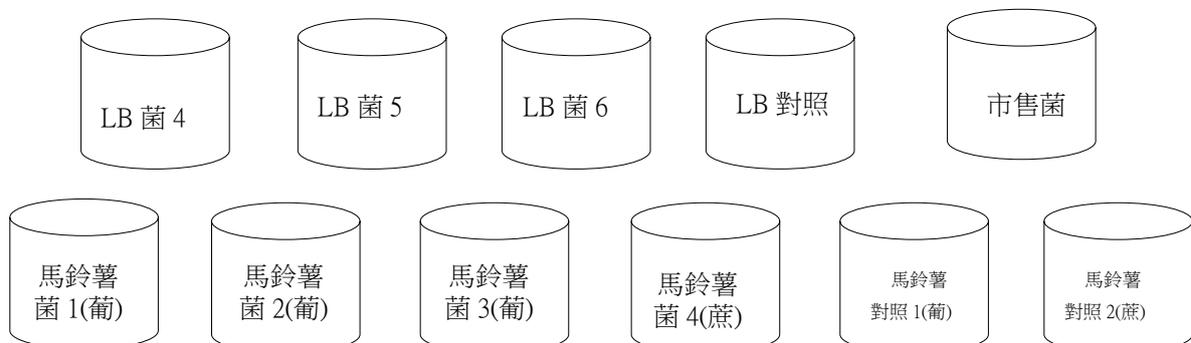
- 1.依據【研究三】及【研究四】的結果，挑選生長表現較佳，對澱粉或葡萄糖檢測有反應的菌種進行落葉堆肥實驗，共計挑選 LB 培養液 3 個菌種，馬鈴薯培養液 4 個菌種。
- 2.分別將上述 7 個菌種放入不同培養液中進行大量繁殖，準備進行實驗。
- 3.另外購置市售菌，放入 LB 培養液培養，準備進行實驗。

#### B.調整碳氮比

落葉碳氮比為 60:1，米糠碳氮比為 15:1，堆肥的最佳碳氮比為 25:1~30:1，經計算後取落葉 50 克，米糠 150 克進行堆肥實驗。

#### C.進行落葉堆肥實驗

- 1.分別將剪碎的落葉、米糠放入蒸氣鍋中煮 30 分鐘後備用。
- 2.將落葉堆肥濕度調整至約 65%左右(落葉：米糠：水：菌液=50：150：370：20)。
- 3.將菌液及水混合後放入灑水器中，準備進行落葉堆肥實驗。
- 4.以一層落葉、一層米糠、噴灑菌液的方式將上述材料放入堆肥桶中，一直到材料放完。
- 5.每 3 天測量溫度及重量，每 9 天進行 pH 值檢測。
- 6.四週後以解剖顯微鏡觀察落葉分解情形，並拍照記錄。



#### D.了解菌種生長曲線

選出表現較佳的馬鈴薯培養液的 2 個菌種，進行菌種生長曲線檢測，每 4 小時進行 OD 值檢測，共計檢測 72 小時。

## (二)大型堆肥桶實驗

### A.菌種篩選及大量培養

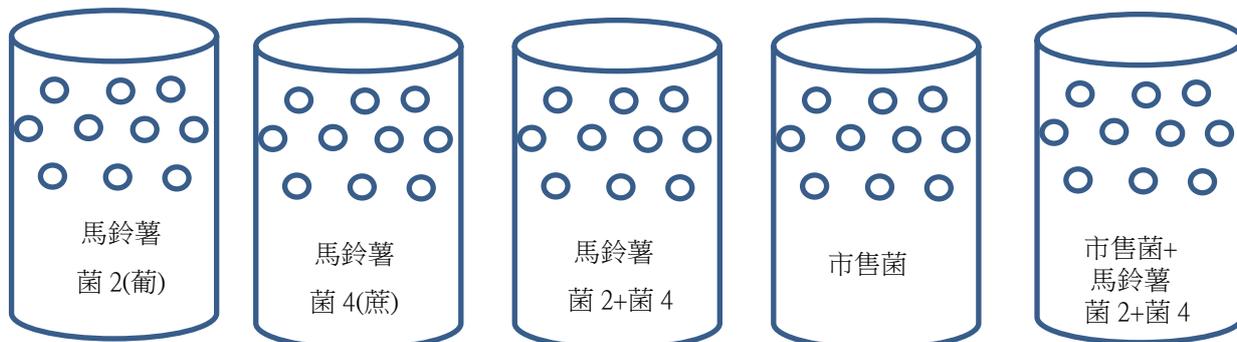
- 1.依據上述小型堆肥實驗的結果，挑選生長表現較佳，對落葉分解有明顯效果的菌種進行大型落葉堆肥實驗，共計挑選馬鈴薯葡萄糖培養液的 2 號菌種，馬鈴薯蔗糖培養液的 4 號菌種。
- 2.將上述 2 個菌種分別放入馬鈴薯葡萄糖及馬鈴薯蔗糖培養液中進行大量繁殖，準備進行實驗。
- 3.另外準備市售菌，放入 LB 培養液大量培養，以便進行實驗。

### B.調整碳氮比

落葉碳氮比為 60:1，米糠碳氮比為 15:1，堆肥的最佳碳氮比為 25:1~30:1，經計算後取落葉 3.3 公斤，米糠 10 公斤進行堆肥實驗。

### C.進行落葉堆肥實驗

- 1.將落葉放入大型塑膠桶中，並以漂白水：水=1：99 的比例浸泡 30 分鐘。
- 2.以大量清水沖洗塑膠桶的落葉後，放至太陽光下曝曬至落葉變乾。
- 2.將落葉堆肥濕度調整至約 65%左右(落葉：米糠：水：菌液=3.3：10：22：3)。
- 3.將米糠、菌液及水倒入大型塑膠箱中，充分攪拌混合，準備進行落葉堆肥實驗。
- 4.以一層落葉、一層菌液混合物的方式將上述材料放入大型堆肥桶中，一直到材料放完。
- 5.每天測量溫度，每 7 天進行 pH 值及濕度檢測。
6. 若檢測到堆肥溫度下降，則以長木棍進行翻攪。
- 7.三週後以解剖顯微鏡觀察落葉分解情形，並拍照記錄。



## 伍、研究結果

### 第一部分：LB 培養基篩選出來的菌種對落葉分解的結果

#### 一、大部份組別的 OD 值顯示菌數增加及 pH 值朝鹼性變化

從表 5-1-1-1 顯示，不管是實驗組或對照組別 OD 值上升，顯示菌數增加，其中「LB, 清水」、「實 1, 對 1」、「實 2, 對 2」、「實 3, 對 3」、「實 5, 對 5」、「實 6, 對 6」五組在菌數增加上有顯著差異；從表 5-1-1-2 顯示，不管是實驗組或對照組，pH 值都呈現朝鹼性變化趨勢，其中「實 1, 對 1」、「實 3, 對 3」、「實 4, 對 4」三組在 pH 值變化上有顯著的差異。

OD 值	LB	清水	實 1	對 1	實 2	對 2	實 3	對 3	實 4	對 4	實 5	對 5	實 6	對 6
day 0	1.357	0.886	1.158	0.565	1.532	0.689	1.705	0.463	1.511	0.586	1.65	0.412	1.308	0.455
day 2	0.975	0.825	1.226	1.005	1.787	1.066	1.674	0.961	1.454	1.089	1.37	0.87	1.173	0.88
day 4	1.266	0.673	1.127	1.076	1.775	1.014	1.638	1.095	1.345	1.444	1.55	0.925	1.267	1.03
day 6	1.529	0.669	1.478	1.228	1.768	1.222	1.748	1.227	1.412	1.273	1.79	1.222	1.632	1.182
T test	0.0194*		0.0457*		0.0007**		0.0103*		0.1132		0.0116*		0.0277*	

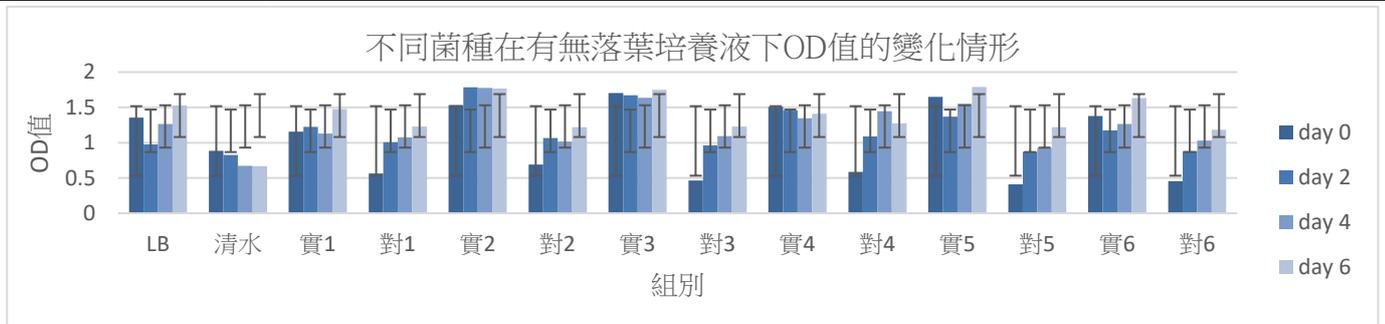


圖 5-1-1-1 不同菌種在有無落葉培養液下 OD 值的變化情形

	LB	清水	實 1	對 1	實 2	對 2	實 3	對 3	實 4	對 4	實 5	對 5	實 6	對 6
day 0	6.22	6.78	7.93	6.94	7.59	6.75	7.69	7.02	7.67	6.22	8.52	6.66	8.25	6.69
day 2	8.08	7.70	8.37	7.81	8.81	8.27	8.65	8.23	8.63	8.3	8.37	8.31	8.50	9.1
day 4	8.8	7.82	9.14	8.6	8.83	8.24	9.11	9.06	9.24	8.58	9.74	9.02	8.33	9.45
day 6	7.82	7.05	9.88	9.33	9.35	9.47	9.92	9.41	9.67	9.4	9.45	9.45	9.4	9.5
T test	0.1411		0.0046**		0.0546		0.0258*		0.0439*		0.1119		0.4589	

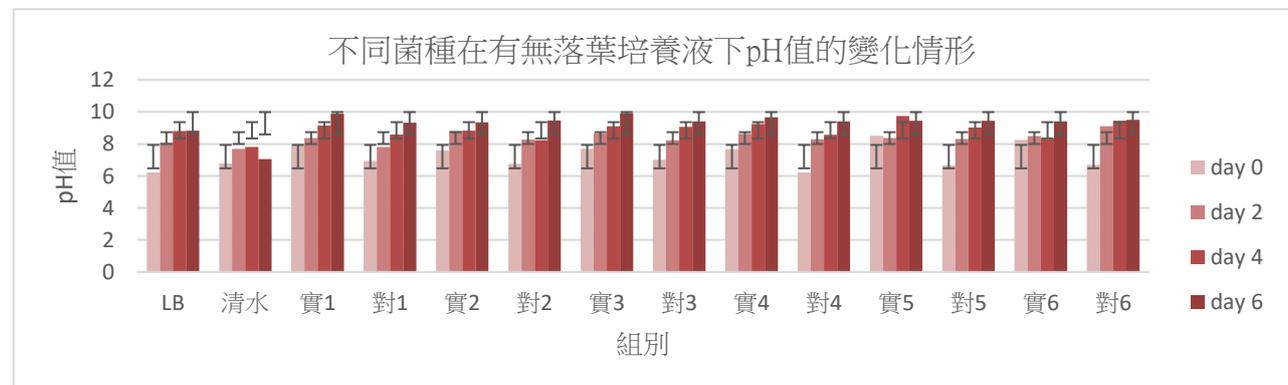


圖 5-1-1-2 不同菌種在有無落葉培養液下 pH 值的變化情形

## 二、有落葉實驗前後 OD 值差異比例最大的是實(菌)1，pH 值差異比例最大的是實(菌)3

從表 5-1-2-1 顯示，不同組別在含落葉的 LB 培養液下 OD 值差異比例由高至低依序為實 1(27.63%)、實 6(24.77%)、清水組(24.49%)、實 2(15.4%)、LB 組(12.68%)、實 5(8.62%)、實 4(6.55%)、實 3(2.52%)；不同組別在含落葉的 LB 培養液下 pH 值差異比例由高至低依序實 3(28.99%)、實 4(26.08%)、LB 組(25.72%)、實 1(24.59%)、實 2(23.19%)、實 6(13.94%)、實 5(10.92%)、清水組(3.98%)。

不同菌種在 LB 落葉培養液中 OD 值					不同菌種在 LB 落葉培養液中 pH 值				
組別	六天前後	OD	OD 值差異	OD 值差異比例%	組別	六天前後	pH	pH 值差異	pH 值差異比例%
LB 組	前	1.357	0.172	12.68	LB 組	前	6.22	1.6	25.72
	後	1.529				後	7.82		
清水組	前	0.886	-0.217	24.49	清水組	前	6.78	0.27	3.98
	後	0.669				後	7.05		
實(菌)1	前	1.158	0.320	27.63	實(菌)1	前	7.93	1.95	24.59
	後	1.478				後	9.88		
實(菌)2	前	1.532	0.236	15.40	實(菌)2	前	7.59	1.76	23.19
	後	1.768				後	9.35		
實(菌)3	前	1.705	0.043	2.52	實(菌)3	前	7.69	2.23	28.99
	後	1.748				後	9.92		
實(菌)4	前	1.511	-0.099	6.55	實(菌)4	前	7.67	2	26.08
	後	1.412				後	9.67		
實(菌)5	前	1.648	0.142	8.62	實(菌)5	前	8.52	0.93	10.92
	後	1.79				後	9.45		
實(菌)6	前	1.308	0.324	24.77	實(菌)6	前	8.25	1.15	13.94
	後	1.632				後	9.4		

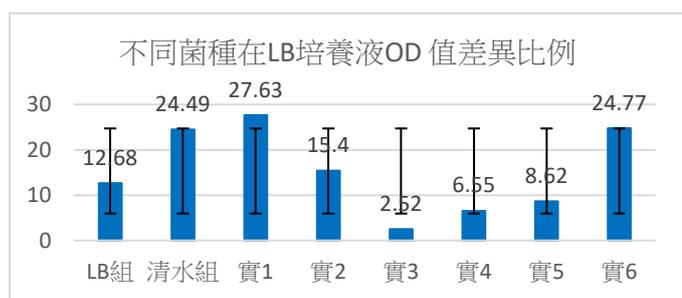


圖 5-1-2-1 不同菌種在 LB 培養液 OD 值差異比例

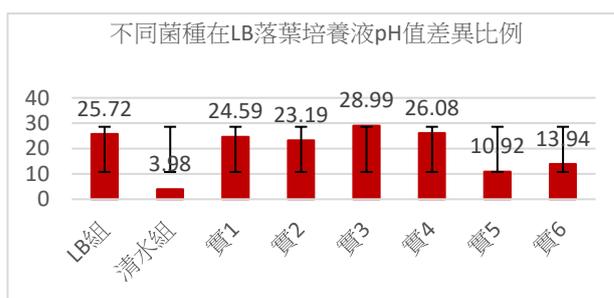


圖 5-1-2-2 不同菌種在 LB 落葉培養液中 pH 值差異比例

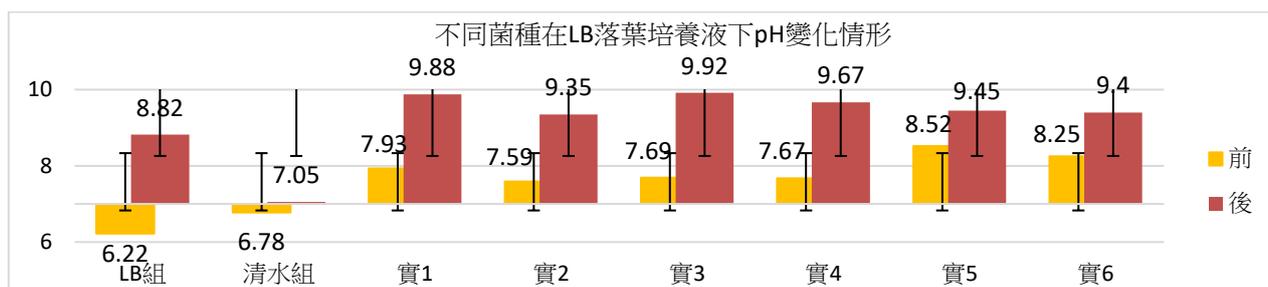


圖 5-1-2-3 不同菌種在 LB 落葉培養液下的 pH 前後變化情形

### 三、在有無落葉實驗下 OD 值差異比例最大的是菌 4，pH 值差異比例最大的是菌 1

從表 5-1-3-1 顯示，在有無落葉的 LB 培養液下菌種 OD 值差異比例由高至低依序為菌 4(114.4%)、菌 3(94.4%)、菌 5(82.5%)、菌 6(65.3%)、菌 2(57.3%)、菌 1(51.7%)；在有無落葉的 LB 培養液下菌種 pH 值差異比例由高至低依序為菌 1(5.89%)、菌 3(5.38%)、菌 4(2.87%)、菌 2(1.267%)、菌 6(1.05%)、菌 5(0%)。

不同菌種在有無落葉培養液中 OD 值					不同菌種在有無落葉培養液中 pH 值				
組別	有無落葉	6 天 OD 值差異	兩組 OD 值差異	OD 值差異比例%	組別	有無落葉	6 天 pH 值差異	兩組 pH 值差異	pH 值差異比例%
菌 1	無	0.663	-0.343	51.7	菌 1	無	9.33	0.55	5.89
	有	0.32				有	9.88		
菌 2	無	0.553	-0.317	57.3	菌 2	無	9.47	-0.12	1.267
	有	0.236				有	9.35		
菌 3	無	0.774	-0.731	94.4	菌 3	無	9.41	0.51	5.38
	有	0.043				有	9.92		
菌 4	無	0.687	-0.786	114.4	菌 4	無	9.4	0.27	2.87
	有	-0.099				有	9.67		
菌 5	無	0.81	-0.668	82.5	菌 5	無	9.45	0	0
	有	0.142				有	9.45		
菌 6	無	0.727	-0.475	65.3	菌 6	無	9.5	-0.1	1.05
	有	0.252				有	9.4		

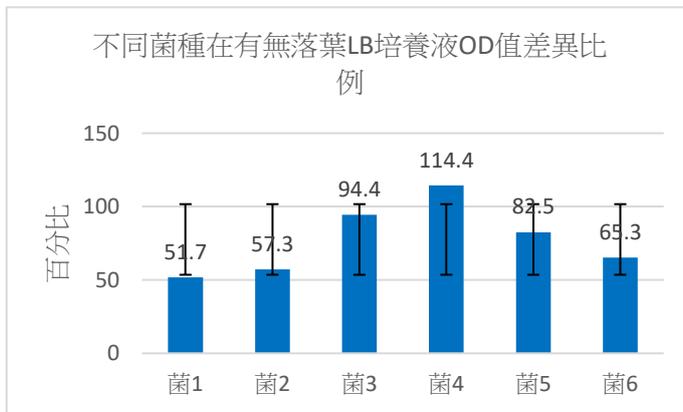


圖 5-1-3-1 不同菌種在有無落葉的 LB 培養液下 OD 值差異比例

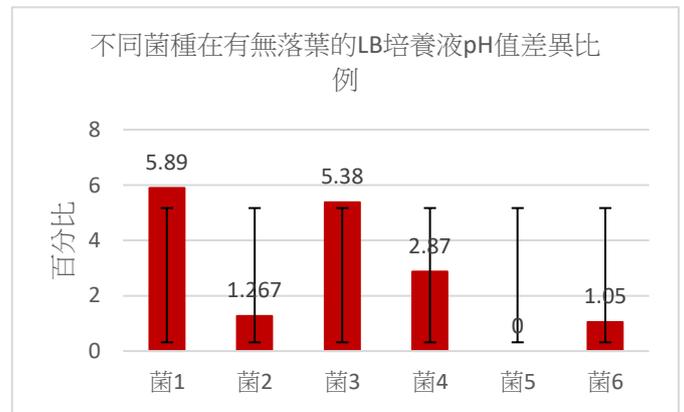


圖 5-1-3-2 不同菌種在有無落葉的 LB 培養液下 pH 值差異比例

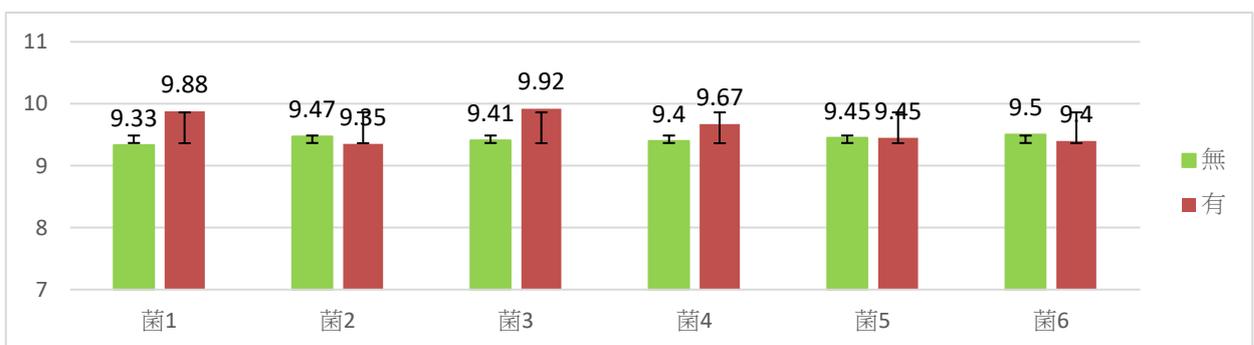


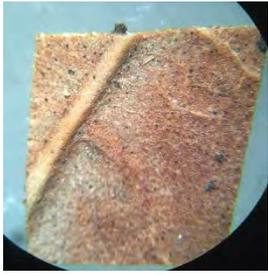
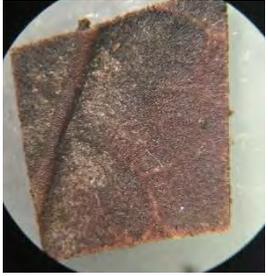
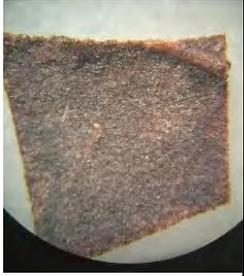
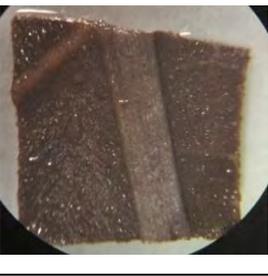
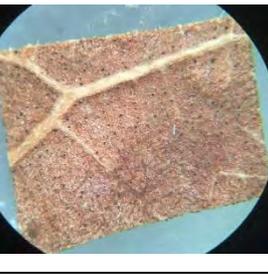
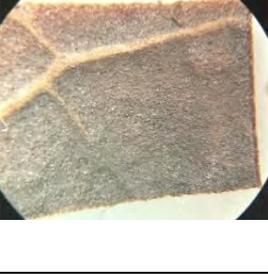
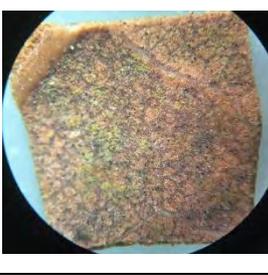
圖 5-1-3-3 不同菌種在有無落葉培養液下的 pH 變化

#### 四、LB 篩選的 6 株菌株無法分解落葉中的纖維素

使用碘液檢測以 LB 實驗組的落葉培養液，滴入碘液後，顏色由原本深褐色逐漸轉為透明，繼續滴入菌液則呈現淡黃褐色，無法測出澱粉反應；使用本氏液檢測時，發現加熱前後顏色皆是淡綠色(黃色菌液+藍色本氏液)，無法測出葡萄糖反應。



#### 五、試管中落葉葉片分解情況差異性不大

組別	實驗前	實驗後	組別	實驗前	實驗後
LB 組			實 3		
	顏色變深，右上角 2 個細葉脈變淡，大葉脈仍存在			葉子邊緣微侵蝕，表面變粗糙，3 條細葉脈紋路淡化	
清水組			實 4		
	葉面及中間的紋路顏色變深			表皮上的紋路消失	
實 1			實 5		
	右下方最細的兩個葉脈消失			葉片顏色變深，紋路變淡	
實 2			實 6		
	中間出現新的凹陷紋路			葉片顏色變深，中間主脈消失	

## 第二部分：馬鈴薯培養基篩選出來的菌種對落葉分解的結果

### 一、各組別的 OD 值顯示菌數增加及 pH 值朝酸性變化

從表 5-2-1-1 顯示，大部分組別的 OD 值上升，顯示菌數增加，其中「實 1,對 1」、「實 2,對 2」、「實 3,對 3」、「實 4,對 4」四組有顯著差異；從表 5-2-1-2 顯示，不管是實驗組或對照組，pH 值都呈現酸性發展的趨勢，其中「清水,馬鈴薯(蔗)」有顯著差異。

OD 值	馬鈴薯(葡)	清水組	馬鈴薯(蔗)	實 1 (葡)	對 1	實 2 (葡)	對 2	實 3 (葡)	對 3	實 4 (蔗)	對 4
day 0	0.944	1.002	1.461	1.291	0.038	1.49	0.396	1.447	0.278	1.412	0.131
day 2	1.088	1.123	1.161	1.078	0.054	1.592	0.988	1.516	0.796	1.238	0.862
day 4	1.137	1.071	1.177	0.893	0.061	1.598	0.843	1.399	0.733	1.244	0.693
day 6	1.208	1.132	1.179	0.904	0.673	1.591	0.826	1.5	0.8	1.176	0.598
T test	0.3723	0.1012		0.015924*		0.002202**		0.003195**		0.019969*	

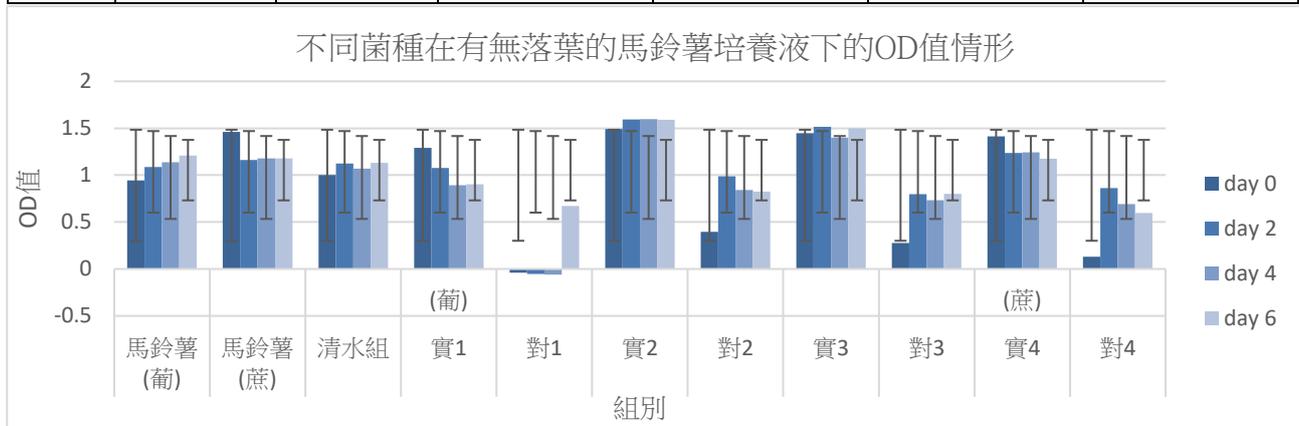


圖 5-2-1-1 不同菌種在有無落葉的馬鈴薯培養液下的 OD 值情形

pH 值	馬鈴薯(葡)	清水組	馬鈴薯(蔗)	實 1	對 1	實 2	對 2	實 3	對 3	實 4	對 4
day 0	6.92	6.63	7.03	5.88	7.35	6.84	7.23	7.48	7.18	6.54	6.66
day 2	7.05	7.12	7.21	6.87	5.71	6.65	6.52	6.6	6.45	6.5	6.76
day 4	6.52	6.28	6.57	5.53	5.43	5.42	6.05	5.85	6.93	5.97	5.2
day 6	6.71	6.38	6.46	6.83	6.33	6.16	5.55	5.73	6.16	5.85	5.41
T test	0.0592	0.0356*		0.4524		0.4082		0.2303		0.2262	

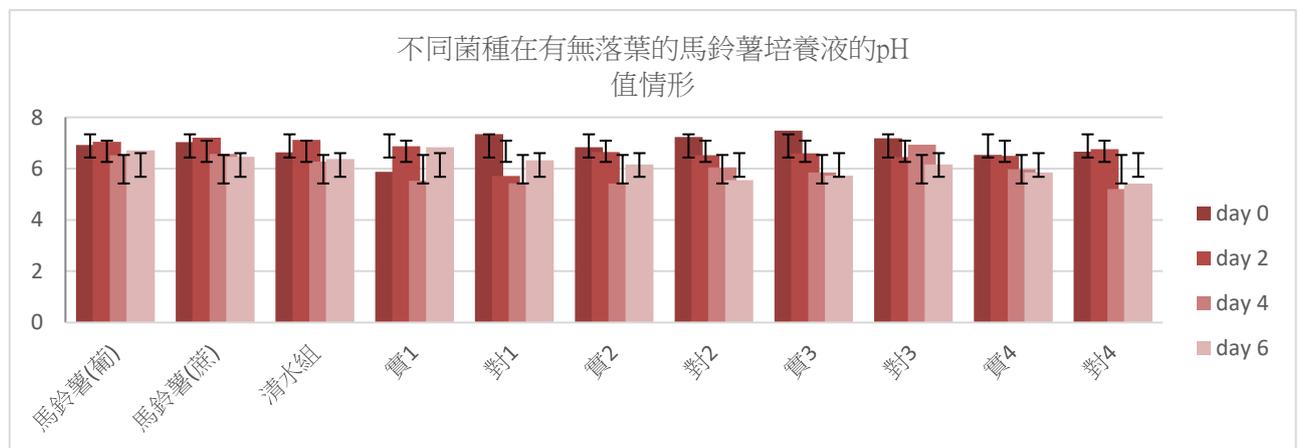


圖 5-2-1-2 不同菌種在有無落葉的馬鈴薯培養液下的 pH 值變化情形

二、有落葉實驗前後 OD 值差異比例最大的是實(菌)1，pH 值差異比例最大的是實(菌)3

從表 5-2-2-1 顯示，在有落葉的馬鈴薯培養液下菌種 OD 值差異比例由高至低依序為實 1(30%)、實 4(16.7%)、馬鈴薯(蔗)(13.3%)、實 2(6.8%)、馬鈴薯(葡)(6.7%)、實 3(3.7%)、清水組(2.7%)；在有落葉的馬鈴薯培養液下菌種 pH 值差異由高至低依序為實 3(23.4%)、實 1(16.2%)、實 4(10.6%)、實 2(9.9%)、馬鈴薯(蔗)(8.1%)、清水組(3.8%)、馬鈴薯(葡)(3%)。

不同菌種在馬鈴薯落葉培養液中 OD 值					不同菌種在馬鈴薯落葉培養液中 pH 值																																																																																		
組別	六天 前後	OD 值	OD 值 差異	OD 值 差異比例%	組別	六天 前後	pH 值	pH 值 差異	pH 值 差異比例%																																																																														
馬鈴薯 (葡)	前	0.944	0.064	6.7	馬鈴薯 (葡)	前	6.92	-0.21	3.0																																																																														
	後	1.008				後	6.71			馬鈴薯 (蔗)	前	1.361	-0.182	13.3	馬鈴薯 (蔗)	前	7.03	-0.57	8.1	後	1.179	後	6.46	清水組	前	1.102	0.03	2.7	清水組	前	6.63	-0.25	3.8	後	1.132	後	6.38	實(菌)1	前	1.291	-0.387	30	實(菌)1	前	5.88	0.95	16.2	後	0.904	後	6.83	實(菌)2	前	1.49	0.101	6.8	實(菌)2	前	6.84	-0.68	9.9	後	1.591	後	6.16	實(菌)3	前	1.447	0.053	3.7	實(菌)3	前	7.48	-1.75	23.4	後	1.5	後	5.73	實(菌)4	前	1.412	-0.236	16.7	實(菌)4	前	6.54
馬鈴薯 (蔗)	前	1.361	-0.182	13.3	馬鈴薯 (蔗)	前	7.03	-0.57	8.1																																																																														
	後	1.179				後	6.46			清水組	前	1.102	0.03	2.7	清水組	前	6.63	-0.25	3.8	後	1.132	後	6.38	實(菌)1	前	1.291	-0.387	30	實(菌)1	前	5.88	0.95	16.2	後	0.904	後	6.83	實(菌)2	前	1.49	0.101	6.8	實(菌)2	前	6.84	-0.68	9.9	後	1.591	後	6.16	實(菌)3	前	1.447	0.053	3.7	實(菌)3	前	7.48	-1.75	23.4	後	1.5	後	5.73	實(菌)4	前	1.412	-0.236	16.7	實(菌)4	前	6.54	-0.69	10.6	後	1.176	後	5.85								
清水組	前	1.102	0.03	2.7	清水組	前	6.63	-0.25	3.8																																																																														
	後	1.132				後	6.38			實(菌)1	前	1.291	-0.387	30	實(菌)1	前	5.88	0.95	16.2	後	0.904	後	6.83	實(菌)2	前	1.49	0.101	6.8	實(菌)2	前	6.84	-0.68	9.9	後	1.591	後	6.16	實(菌)3	前	1.447	0.053	3.7	實(菌)3	前	7.48	-1.75	23.4	後	1.5	後	5.73	實(菌)4	前	1.412	-0.236	16.7	實(菌)4	前	6.54	-0.69	10.6	後	1.176	後	5.85																						
實(菌)1	前	1.291	-0.387	30	實(菌)1	前	5.88	0.95	16.2																																																																														
	後	0.904				後	6.83			實(菌)2	前	1.49	0.101	6.8	實(菌)2	前	6.84	-0.68	9.9	後	1.591	後	6.16	實(菌)3	前	1.447	0.053	3.7	實(菌)3	前	7.48	-1.75	23.4	後	1.5	後	5.73	實(菌)4	前	1.412	-0.236	16.7	實(菌)4	前	6.54	-0.69	10.6	後	1.176	後	5.85																																				
實(菌)2	前	1.49	0.101	6.8	實(菌)2	前	6.84	-0.68	9.9																																																																														
	後	1.591				後	6.16			實(菌)3	前	1.447	0.053	3.7	實(菌)3	前	7.48	-1.75	23.4	後	1.5	後	5.73	實(菌)4	前	1.412	-0.236	16.7	實(菌)4	前	6.54	-0.69	10.6	後	1.176	後	5.85																																																		
實(菌)3	前	1.447	0.053	3.7	實(菌)3	前	7.48	-1.75	23.4																																																																														
	後	1.5				後	5.73			實(菌)4	前	1.412	-0.236	16.7	實(菌)4	前	6.54	-0.69	10.6	後	1.176	後	5.85																																																																
實(菌)4	前	1.412	-0.236	16.7	實(菌)4	前	6.54	-0.69	10.6																																																																														
	後	1.176				後	5.85																																																																																

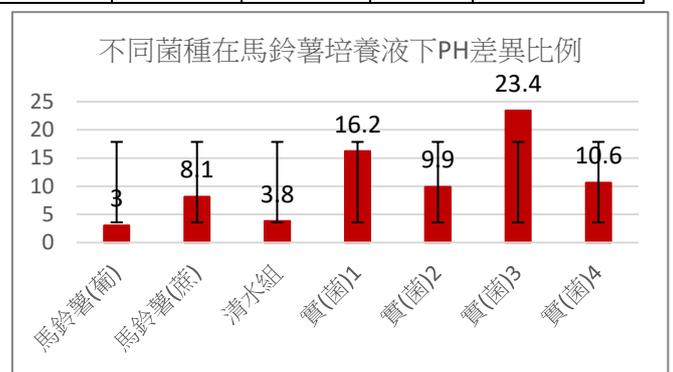
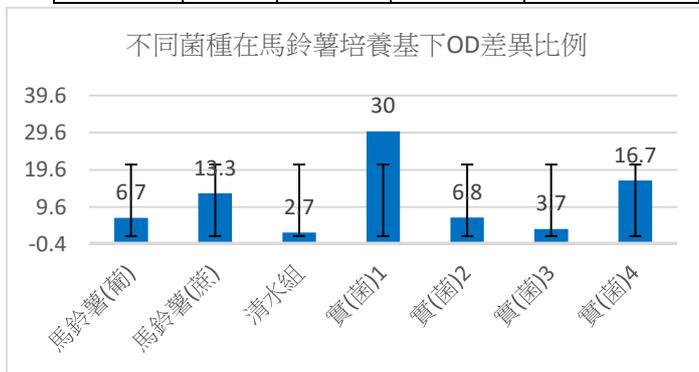
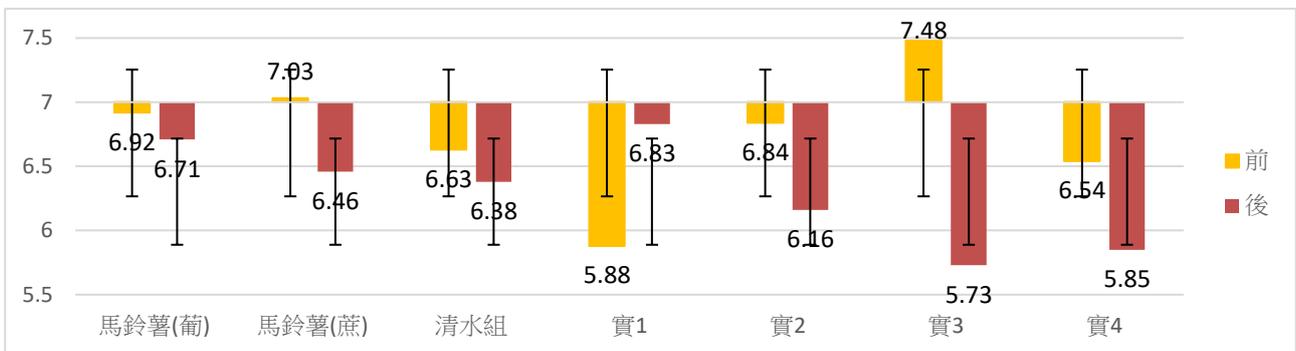


圖 5-2-2-1 不同菌種在馬鈴薯落葉培養 OD 值差異比例

圖 5-2-2-2 不同菌種在馬鈴薯落葉培養液中 pH 值差異比例



5-2-2-3 不同菌種在馬鈴薯落葉培養液中養液中 pH 值前後變化情形

### 三、在有無落葉實驗下 OD 值差異比例最大的是菌 4，pH 值差異比例最大的是菌 2

從表 5-2-3-1 顯示，在有無落葉的馬鈴薯培養液下菌種 OD 值差異比例由高至低依序為菌 4(151.2%)、菌 1(146.9%)、菌 3(90.2%)、菌 2(77%)；在有無落葉的馬鈴薯培養液下菌種 pH 值差異比例由高至低依序為菌 2(10.99%)、菌 4(8.13%)、菌 1(7.89%)、菌 3(6.98%)。

不同菌種在有無落葉的馬鈴薯培養液中 OD 值					不同菌種在有無落葉的馬鈴薯培養液中 pH 值				
組別	有無落葉	6 天 OD 值差異	兩組 OD 值差異	OD 差異比例%	組別	有無落葉	pH 值	pH 值差異	pH 值差異比例%
菌 1	無	0.611	-0.898	146.9	菌 1	無	6.33	0.5	7.89
	有	-0.287				有	6.83		
菌 2	無	0.43	-0.329	77	菌 2	無	5.55	0.61	10.99
	有	0.101				有	6.16		
菌 3	無	0.522	-0.469	90.2	菌 3	無	6.16	-0.43	6.98
	有	0.053				有	5.73		
菌 4	無	0.467	-0.703	151.2	菌 4	無	5.41	0.44	8.13
	有	-0.236				有	5.85		

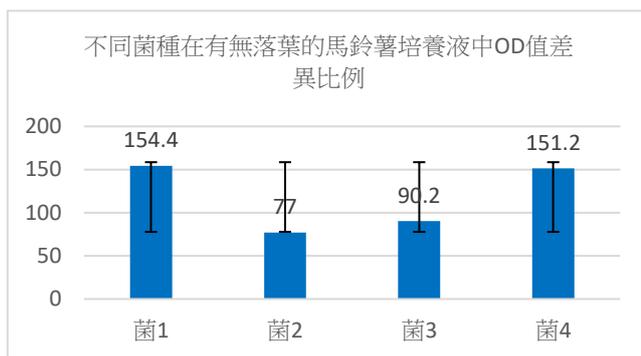


圖 5-2-3-1 不同菌種在有無落葉的馬鈴薯培養液中 OD 值差異比例

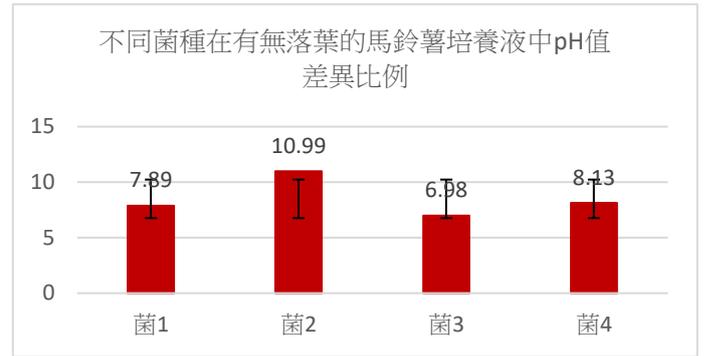


圖 5-2-3-2 不同菌種在有無落葉的馬鈴薯培養液中 pH 值差異比例

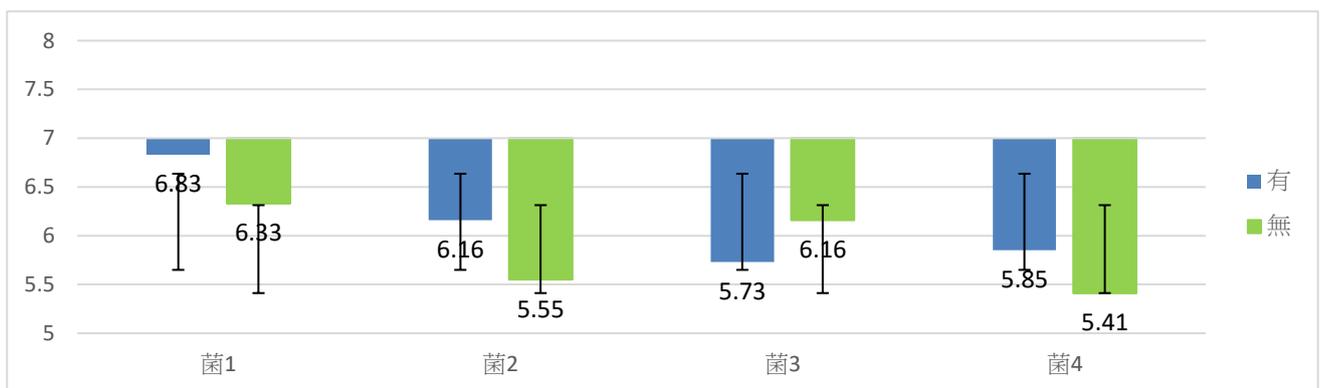
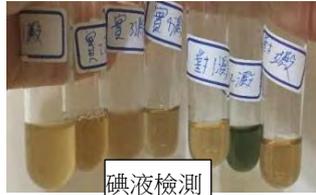


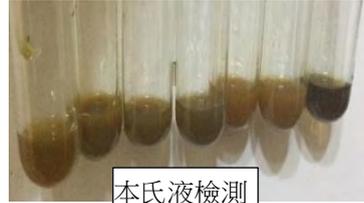
圖 5-2-3-3 不同菌種在有無落葉的馬鈴薯培養液中 pH 值的差異

#### 四、馬鈴薯培養基篩選的 4 個菌種會分解落葉纖維素產生葡萄糖

使用碘液檢測實驗組的落葉培養液，滴入碘液後，顏色由原本深褐色逐漸轉為淡黃褐色，只有對照組 2(蔗糖組)呈現綠色，無法建測出澱粉。使用本氏液檢測時，發現 4 組菌加熱前為淡綠色，加熱後皆呈現顏色深淺不一的黃褐色，證實液體中含有葡萄糖，代表可以分解落葉纖維素。



碘液檢測



本氏液檢測

#### 五、試管中落葉葉片分解情況有差異

	實驗前	實驗後		實驗前	實驗後
馬鈴薯(葡)			實 2		
	沒有明顯變化			主葉脈左右邊的細小葉脈明顯消失	
馬鈴薯(蔗)			實 3		
	右邊細小紋路消失			主葉脈上細小葉脈明顯消失	
清水組			實 4		
	主葉脈右上方細小紋路消失			主葉脈上細小葉脈明顯消失	
實 1					
	主葉脈右下方細小葉脈消失			馬鈴薯培養液分解實驗	

### 第三部分：馬鈴薯培養基篩選出來的菌種對甲基纖維素分解的結果

#### 一、各組別的 OD 值顯示菌數增加及 pH 值朝酸性變化

從表 5-3-1-1 顯示，大部分組別的 OD 值上升，顯示菌數增加，其中「馬(葡對),實 1」、「馬(葡對),實 2」、「馬(蔗對),實 4」三組有顯著差異；不管是實驗組或對照組，pH 值都呈現酸性發展的趨勢，其中「馬(葡對),實 2」、「馬(葡對),實 3」、「馬(蔗對),實 4」三組有顯著差異。

OD 值	馬鈴薯 (葡對)	實(菌)1	馬鈴薯 (葡對)	實(菌)2	馬鈴薯 (葡對)	實(菌)3	馬鈴薯 (蔗對)	實(菌)4
day0	0.093	0.102	0.093	0.222	0.093	0.249	0.118	0.17
day2	0.137	0.041	0.137	0.405	0.137	0.337	0.255	0.468
day4	0.186	0.054	0.186	0.531	0.186	0.481	0.221	0.428
day6	0.599	0.434	0.599	0.728	0.599	0.487	0.356	0.46
T test		0.0422*		0.0134*		0.1100		0.0179*

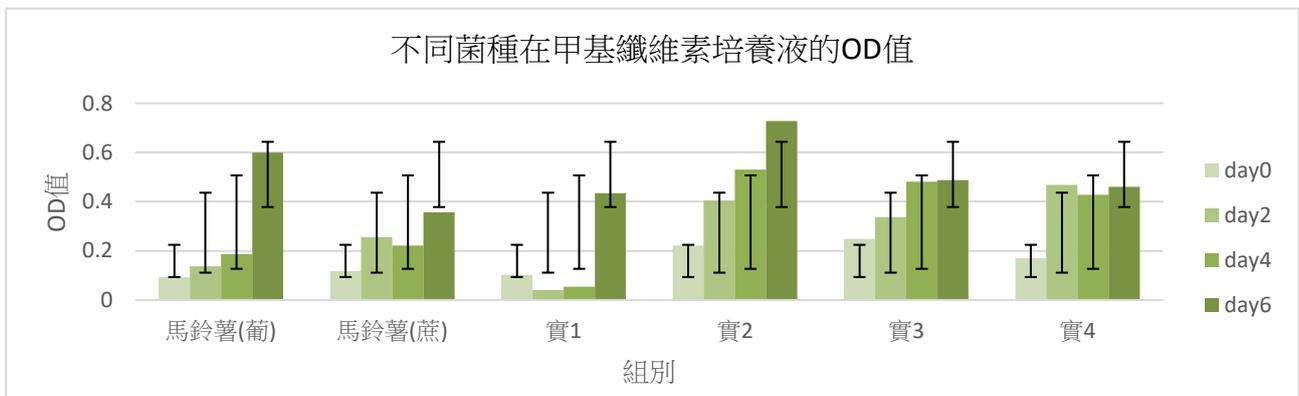


圖 5-3-1-1 不同菌種在甲基纖維素培養液的 OD 值

pH 值	馬鈴薯 (葡對)	實(菌)1	馬鈴薯 (葡對)	實(菌)2	馬鈴薯 (葡對)	實(菌)3	馬鈴薯 (蔗對)	實(菌)4
day0	7.25	7.47	7.25	7.69	7.25	7.48	7.15	7.68
day2	6.26	5.98	6.26	6.73	6.26	7.34	6.33	6.82
day4	5.99	6.23	5.99	6.97	5.99	6.96	5.73	6.72
day6	5.97	4.16	5.97	6.73	5.97	6.84	5.12	7.17
T test		0.2303		0.0070**		0.0129*		0.0341*

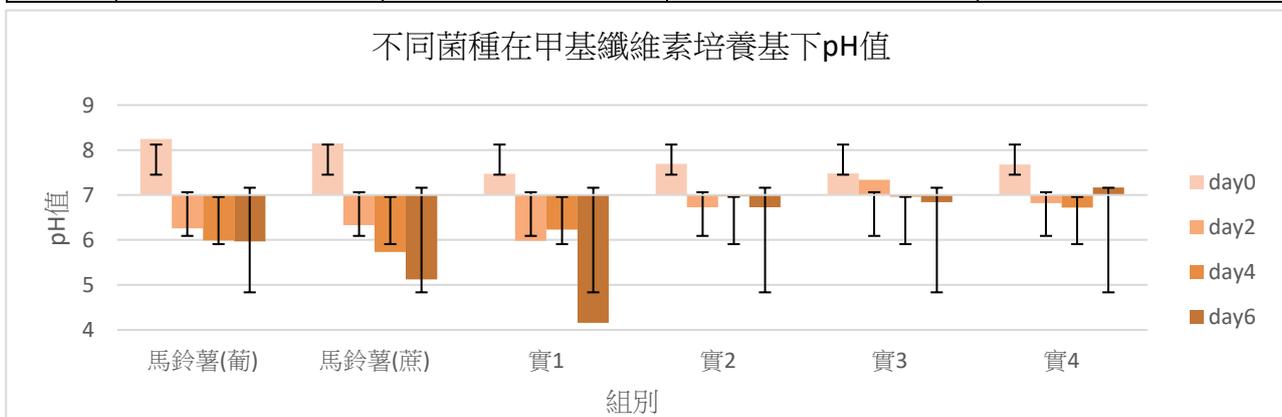


圖 5-3-1-2 不同菌種在甲基纖維素培養基下 pH 值

## 二、甲基纖維素實驗 OD 值差異比例最大的是馬鈴薯(葡)組，pH 值差異比例最大的是實 1

從表 5-3-2-1 顯示，在甲基培養液 OD 值差異比例由高至低依序為馬鈴薯(葡)(544.1%)、實 1(325.5%)、菌 2(227.9%)、馬鈴薯(蔗)(201.7%)、菌 4(170.6%)、菌 3(95.6%)；在甲基培養液下菌種 pH 值差異比例由高至低依序為菌 1(44.3%)、馬鈴薯(蔗)(37.2%)、馬鈴薯(葡)(27.6%)、菌 2(12.5%)、菌 3(8.6%)、菌 4(6.6%)。

不同菌種在甲基纖維素培養液中 OD 值					不同菌種在甲基纖維素培養液中 pH 值				
組別	六天 前後	OD	OD 值 差異	OD 值 差異 比例%	組別	六天 前後	pH	pH 值 差異	pH 值 差異 比例%
馬鈴薯 (葡)	前	0.093	0.506	544.1	馬鈴薯 (葡)	前	8.25	-2.28	27.6
	後	0.599				後	5.97		
馬鈴薯 (蔗)	前	0.118	0.238	201.7	馬鈴薯 (蔗)	前	8.15	-3.03	37.2
	後	0.356				後	5.12		
實(菌)1	前	0.102	0.322	325.5	實(菌)1	前	7.47	-3.31	44.3
	後	0.434				後	4.16		
實(菌)2	前	0.222	0.506	227.9	實(菌)2	前	7.69	-0.96	12.5
	後	0.728				後	6.73		
實(菌)3	前	0.249	0.238	95.6	實(菌)3	前	7.48	-0.64	8.6
	後	0.487				後	6.84		
實(菌)4	前	0.17	0.29	170.6	實(菌)4	前	7.68	-0.51	6.6
	後	0.46				後	7.17		

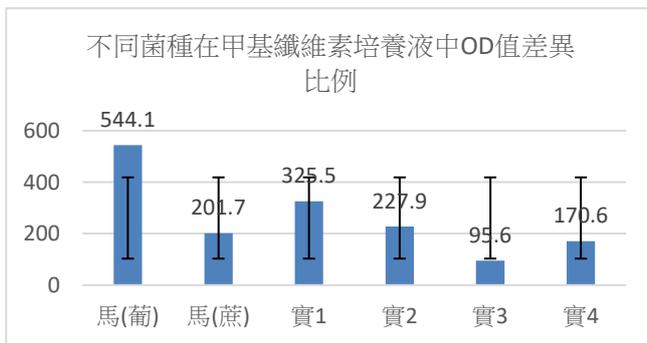


圖 5-3-2-1 不同菌種在甲基纖維素培養液中 OD 值差異比例

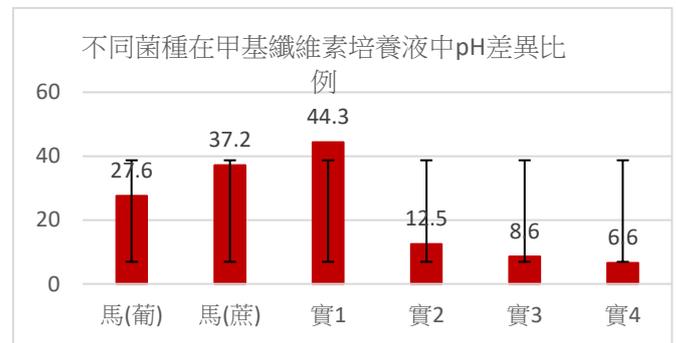


圖 5-3-2-2 不同菌種在甲基纖維素培養液中 pH 差異比例

## 三、2 號、3 號、4 號菌會分解甲基纖維素，產生澱粉或葡萄糖

使用碘液檢測實驗組的甲基培養液，滴入碘液後，實(菌)2 及實(菌)3 的顏色由原本褐色逐漸轉為深藍色，對照組 1(葡萄糖)及 2(蔗糖組)也呈現深淺不一的藍色，推測培養液含有澱粉。使用本氏液檢測時，發現加熱後實(菌)2、實(菌)3、實(菌)4 呈現深淺不一的綠色，推測培養液含有葡萄糖。



澱粉檢測



葡萄糖檢測

#### 第四部份：利用自培菌進行落葉堆肥實驗

##### A. 小型堆肥桶實驗

##### 一、在落葉堆肥中 pH 值差異最大的是市售菌，重量差異最大的是 LB(菌 6)

從圖 5-4-1-1 顯示，在落葉堆肥桶中菌種 pH 值差異比例由高至低依序為市售菌(51.5%)、LB 菌 4(40.6%)、LB 對照組(28.1%)、馬鈴薯菌 1 (16.9%)、馬鈴薯 (葡對) (16.7%)、LB 菌 6(13.4%)、馬鈴薯蔗對照(13.3%)、馬鈴薯菌 3(11.1%)、LB 菌 5(7.0%)、及馬鈴薯菌 4(1.8%)及馬鈴薯菌 2(1.4%)；從圖 5-4-1-2 顯示，在在落葉堆肥桶中菌種重量差異由高至低依序為 LB 菌 6(7.2%)、市售菌(6.2%)、LB 對照組及馬鈴薯葡對照(6.1%)、馬鈴薯蔗對照 (5.2%)、馬鈴薯蔗菌 4(4.7%)、馬鈴薯菌 3(4.5%)、LB 菌 4(4.3%)、馬鈴薯菌 2(3.5%)、LB 菌 5(3.0%)、馬鈴薯菌 1(2.9%)。

pH 值	LB(菌 4)	LB(菌 5)	LB(菌 6)	馬鈴薯菌 (菌 1)	馬鈴薯菌 (菌 2)	馬鈴薯菌 (菌 3)	馬鈴薯蔗 (菌 4)	LB 對照	馬鈴薯(葡對)	馬鈴薯(蔗對)	市售菌
第 1 天 pH 值	4.93	5.32	6.5	5.4	6.9	6.01	5.6	5.45	6.15	6.18	4.91
第 35 天 pH	6.93	4.95	7.37	4.49	7	6.68	5.7	6.98	7.18	7	7.44
pH 值 差異	2	-0.37	0.87	-0.91	0.1	0.67	0.1	1.53	1.03	0.82	2.53
差異比例	40.6	7.0	13.4	16.9	1.4	11.1	1.8	28.1	16.7	13.3	51.5
重量	LB(菌 4)	LB(菌 5)	LB(菌 6)	馬鈴薯菌 (菌 1)	馬鈴薯菌 (菌 2)	馬鈴薯菌 (菌 3)	馬鈴薯蔗 (菌 4)	LB 對照	馬鈴薯(葡對)	馬鈴薯(蔗對)	市售菌
第 1 天 重量	1112	1059	1067	1042	1126	1106	1112	1107	1137	1075	1116
第 35 天 重量	1064	1027	990	1012	1087	1056	1060	1040	1068	1019	1047
差異 克數	48	32	77	30	39	50	52	67	69	56	69
差異比例	4.3	3.0	7.2	2.9	3.5	4.5	4.7	6.1	6.1	5.2	6.2

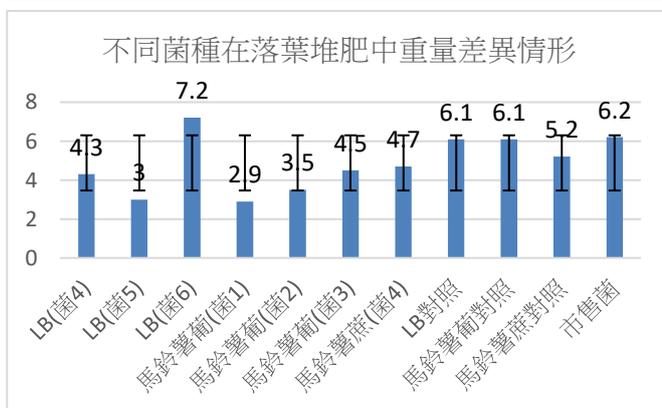


圖 5-4-1-1 不同菌種在落葉堆肥中重量差異情形

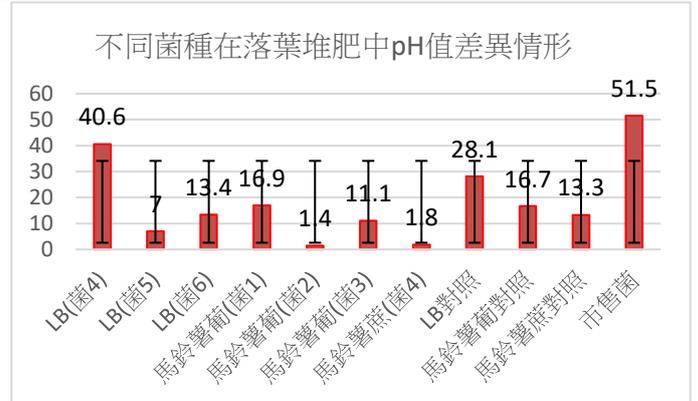


圖 5-4-1-2 不同菌種在落葉堆肥中 pH 值差異情形

## 二、馬鈴薯培養基篩選的菌種在落葉堆肥桶中生長狀況佳

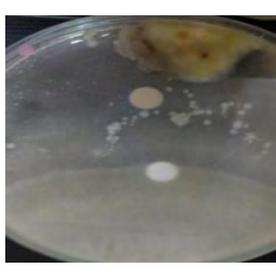
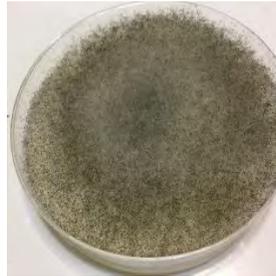
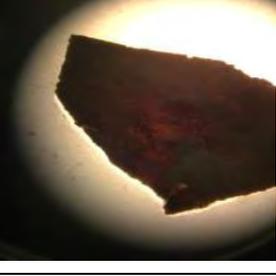
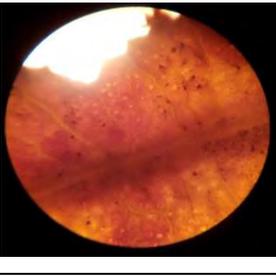
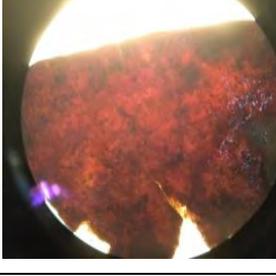
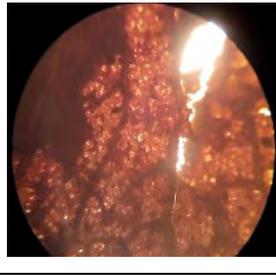
觀察 11 個落葉堆肥桶後，發現在 LB 培養液的三組菌種中以菌 4 的菌種生長狀況佳，菌 5 及菌 6 落葉桶中幾乎無菌絲生長。在馬鈴薯培養液的四組菌種中，菌 2、菌 3 及菌 4 生長狀況較佳，菌 1 則無明顯的菌落生長。而在對照組的四組菌種中，馬鈴薯培養液葡萄糖組、馬鈴薯培養液蔗糖組、市售菌三組皆有明顯的菌落生長。

菌	1.LB 培養液(菌 4)	2.LB 培養液(菌 5)	3.LB 培養液(菌 6)	4.馬鈴薯培養液(菌 1)
照片				
說明	第 9 天之後整個表面覆蓋高約 3 公分的黑色菌絲，翻攪後為墨綠菌落。	落葉顏色變深，但無明顯菌落產生。	落葉顏色變深，無明顯菌落產生，21 天後發現果蠅幼蟲，持續繁殖。	落葉顏色變深，但無明顯菌落產生。
菌	5.馬鈴薯培養液(菌 2)	6.馬鈴薯培養液(菌 3)	7.馬鈴薯培養液(菌 4)	8. LB 培養液(對照組)
照片				
說明	第 9 天在葉桶邊發現粉紅色毛狀菌落，第 15 天開始出現綠色菌落。	第 18 天發現成團黃色黏稠菌落長在葉子表面，並有少數果蠅。	落葉顏色變深，有菌落生長情形。	落葉顏色變深，無明顯菌落產生，第 15 天開始出現果蠅，並大量繁殖。
菌	9. 馬鈴薯培養液(葡對)	10. 馬鈴薯培養液(蔗對)	11.市售菌	落葉堆肥桶
照片				
說明	第 21 天開始出現綠色菌落生長在葉上，並出現白色菌絲。	第 24 天開始出現粉白色黏稠菌落，成片葉子上布滿白色菌絲。	第 6 天出現紅色菌落，第 18 天出現果蠅大量繁殖，第 27 天出現白色菌絲。	兩側為通風孔，中間為取樣孔，並以蓋子覆蓋，避免水分快速流失。

### 三、馬鈴薯培養基篩選出來的菌種可以分解落葉

為了更了解堆肥桶中的菌種及對落葉分解程度，另外準備了 LB 培養基及馬鈴薯葡萄糖培養基進行培養。經過三天培養後，發現市售菌菌落生長狀態是有各種不同顏色的菌落；馬鈴薯葡萄糖培養基(菌 2)的菌落則是明顯的菌絲及孢子生長；馬鈴薯蔗糖培養基(菌 3)則是出現成團黃色菌落形態，馬鈴薯蔗糖培養基(菌 4)的菌落出現菌絲及孢子群生長。

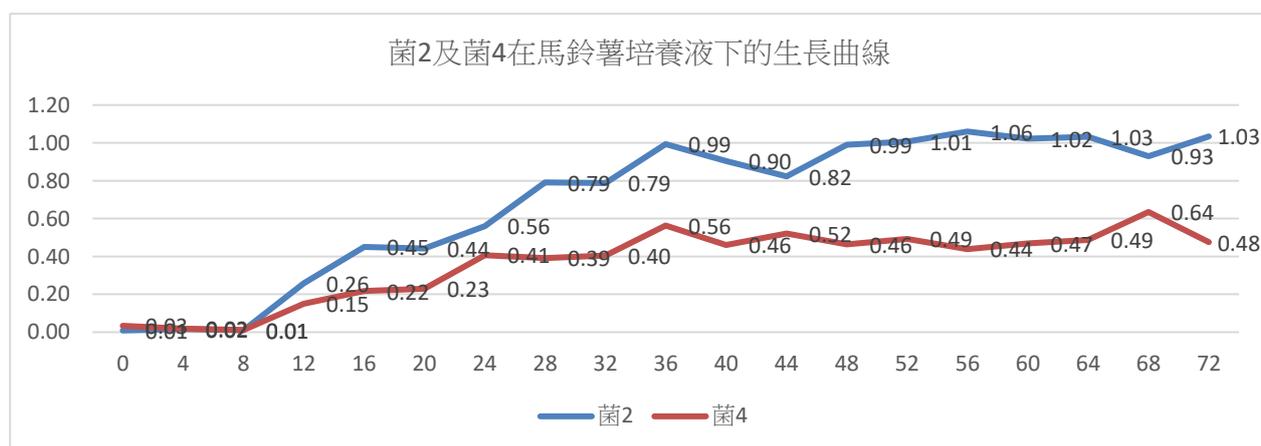
四種菌種在落葉分解上也有極大的差異，市售菌堆肥下的落葉透光度較低；馬鈴薯葡萄糖培養基(菌 2)堆肥下的落葉出現邊緣破損，在解剖顯微鏡下具有透光性；馬鈴薯葡萄糖培養基(菌 3)堆肥下的落葉有纖維分離，在解剖顯微鏡下具有透光性；馬鈴薯蔗糖培養基(菌 4)堆肥下的落葉表皮分離，在解剖顯微鏡下具有透光性。

菌種	馬鈴薯培養基(市售菌)	馬鈴薯葡萄糖培養基(菌 2)	馬鈴薯葡萄糖培養基(菌 3)	馬鈴薯蔗糖培養基(菌 4)
菌種生長樣貌				
落葉堆肥分解狀態				
說明	落葉保持完整樣貌，透光度較低	落葉邊緣碎裂，在顯微鏡下具有透光性	落葉邊原有細小纖維分離，在顯微鏡下具有透光性。	落葉表皮分離情形明顯，在顯微鏡下具有透光性。

### 四、菌 2 及菌 4 生長情形有差異

為了進一步了解菌 2、菌 4 的生長情形，因此進行兩種菌的生長實驗，從圖 5-4-3-1 中可以很明顯看出菌 2 的 OD 值都比菌 4 高，而且隨著時間增加兩者之間的差異也加大。

時間	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48	52	56	60	64	68	72
菌 2	0.01	0.02	0.01	0.26	0.45	0.44	0.56	0.79	0.79	0.99	0.90	0.82	0.99	1.01	1.06	1.02	1.03	0.93	1.03
菌 4	0.03	0.02	0.01	0.15	0.22	0.23	0.41	0.39	0.40	0.56	0.46	0.52	0.46	0.49	0.44	0.47	0.49	0.64	0.48



## B.大型堆肥桶實驗

### 一、菌 2 及菌 4 的 pH 值朝酸性發展，其中菌 2 的 pH 值差異比例最大

從圖 5-4-4-1 顯示，在大型落葉堆肥桶中菌種 pH 值差異比例依序為菌 2(24.2%)、菌 2+菌 4(14.6%)、市售菌(12.7%)、菌 4(8%)、市售菌+菌 2+菌 4(7.9%)。

pH 值	菌 2	菌 4	菌 2+ 菌 4	市售菌	市菌+ 菌 2+ 菌 4
第 1 天 pH 值	4.34	4.14	4.18	4.33	3.78
第 21 天 pH 值	3.29	3.81	4.79	4.88	4.08
差異比例%	24.2	8	14.6	12.7	7.9

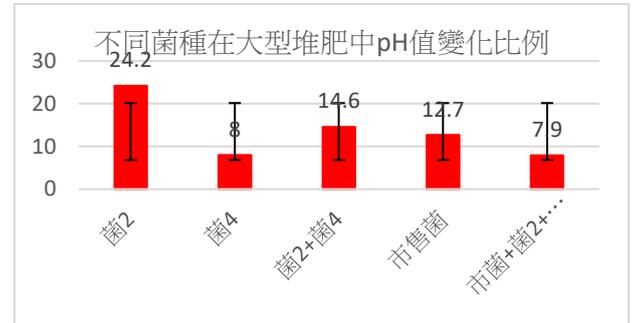


圖 5-4-2-1 不同菌種在大型堆肥桶中 pH 值變化百分比

### 二、大型落葉堆肥中以菌 2 平均溫度最高，市售菌平均溫度最低

從圖 5-4-4-2 顯示，在大型落葉堆肥桶中菌種平均溫度由高到低依序為菌 2(52.91°C)、菌 2+菌 4(51.09°C)、市菌+菌 2+菌 4(50.13°C)、菌 4(49.26°C)、市售菌(49.07°C)。

天數	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	均溫
菌 2	42.6	42.3	44.6	51.5	60.3	51.7	58.7	56.6	50.8	54.6	50.4	62.7	64.5	58.2	52.4	49.8	47.7	52.91
菌 4	48.6	46.9	47	52.9	49.4	46.4	54.4	46.7	45.2	45.3	42.3	53.8	55.4	57.8	51	48.8	45.5	49.26
菌 2+4	43.9	45.7	47.5	50	54.7	53.1	54.2	55	53.2	50.9	52.1	54.3	52.1	56.2	50	48.2	47.5	51.09
市菌	44.9	43.6	43.3	46.2	46.3	45.7	50.1	48.6	48.4	48	43.8	55.6	57.2	54.5	54.7	53	50.3	49.07
市菌+菌 2+菌 4	43.7	43.8	42.6	50.7	51.7	52.2	58.4	45.6	51	40	50.3	55.1	58.5	56.9	48.8	52.2	50.7	50.13

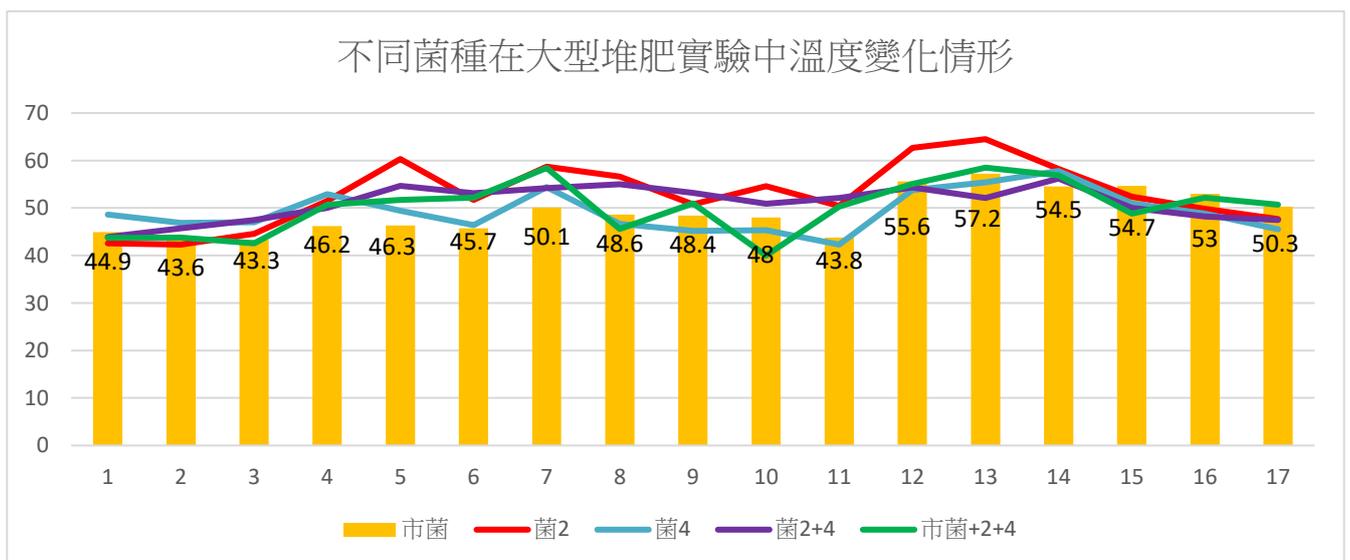
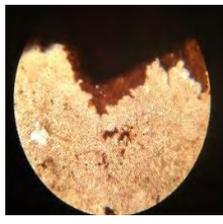
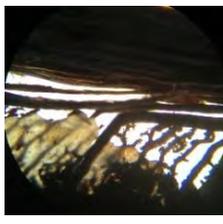
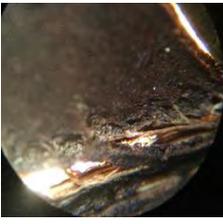


圖 5-4-2-2 不同菌種在大型堆肥中溫度變化情形

### 三、菌 2 生長速度最快，落葉高度降低最多

菌種	馬鈴薯葡(菌 2)	馬鈴薯蔗(菌 4)	馬鈴薯(菌 2)+(菌 4)	市售菌	市售菌+馬鈴薯(菌 2)+(菌 4)
10 天					
說明	第 2 天開始長出白色菌絲，第 4 天菌絲逐漸變黑，高度下降 5 公分	第 2 天開始長出白色菌絲，第 5 天菌絲逐漸變黑	第 2 天開始長出白色菌絲，第 5 天菌絲逐漸變黑並擴散	第 3 天發現白色菌絲，第 8 天在桶子中發現果蠅幼蟲	第 2 天開始長出白色菌絲，第 6 天菌絲變黑
20 天					
說明	第 14 天發現黑水蛇幼蟲，第 17 天長出草菇，總高度下降 10 公分	米糠及落葉明顯變黑，總高度下降 7 公分	菌絲減少，生長情況不如前 10 天，總高度下降 6 公分	落葉變軟，米糠及落葉變黑，總高度下降 6 公分	第 17 天發現黑水蛇幼蟲，總高度下降 8 公分

### 四、菌 2 對印度橡膠葉的分解情況最佳

菌種	馬鈴薯葡(菌 2)	馬鈴薯蔗(菌 4)	馬鈴薯(菌 2)+(菌 4)	市售菌	市售菌+馬鈴薯(菌 2)+(菌 4)
印度橡膠葉					
分解情形	明顯透光性，且有地方只留下透明的表皮	表面光澤消失，葉脈附近有明顯裂痕	保有光澤但葉脈及部分葉肉變黑	有明顯的變薄表皮脫落及葉脈斷裂	有部分破洞，且葉脈軟化情形明顯
分解放大圖					
分解情形	在顯微鏡下只留下透明的表皮，葉脈葉肉被分解消失	葉肉被分解不見，只留下葉脈	葉子顏色變深，葉脈變淡，但沒出現裂痕	部分葉肉被分解，且葉脈有明顯斷裂	上層葉肉消失留下明顯葉脈

## 陸、討論

### 一、不同培養基的篩選的菌種 pH 值有極大差異，而且落葉會影響菌種的生長速度

在進行落葉分解實驗時，從 LB 培養出來的菌種 pH 值由微鹼變較鹼(pH8 → pH9)，而馬鈴薯培養基的菌種 pH 值由中偏酸變較酸(pH7 → pH5)。在小型試管的有無落葉上清液及 4\*4mm 實驗中，發現實驗組(含落葉)與對照組(不含落葉)在 OD 值變化中呈現顯著差異，進一步探究後發現實驗組(含落葉)OD 值變化都小於對照組(不含落葉)，顯示落葉會影響菌種生長速度。

### 二、LB 篩選出來的 6 個菌種無法分解落葉纖維素

以 LB 培養基篩選出來的 6 個菌種進行試管落葉分解試驗時，發現 6 個菌種進行碘液或本氏液檢測時，都沒有辦法檢測出澱粉或葡萄糖的反應，因此推論這 6 個菌種無法分解落葉纖維素。

### 三、馬鈴薯培養基篩選的 4 個菌種在試管落葉分解中 pH 值及 OD 值有差異，並可分解落葉

進行試管落葉分解實驗時，有以下的發現：A.有落葉實驗前後 OD 值差異比例最大的是實(菌)1，pH 值差異比例最大的是實(菌)3；B.在有無落葉實驗下 OD 值差異比例最大的是菌 4，pH 值差異比例最大的是菌 2；C.馬鈴薯培養基篩選的 4 個菌種會分解落葉纖維素產生葡萄糖。

### 四、馬鈴薯培養基篩選的 2 號菌、3 號菌及 4 號菌可以分解甲基纖維素

在甲基纖維素實驗中，發現 2 號及 3 號菌在碘液檢測時會呈現藍黑色，2 號、3 號菌及 4 號菌在本氏液檢測時會呈現深淺不一的綠色，因此推論這三個菌會分泌澱粉酶及纖維素酶(鄭，2014)，進一步將甲基纖維素分解成澱粉及葡萄糖。

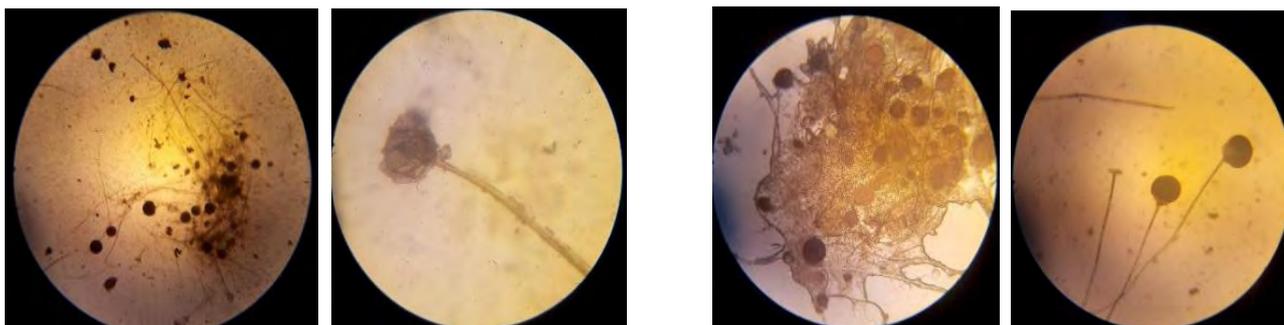
### 五、2 號菌、3 號菌及 4 號菌分解落葉的效果優於市售菌

在小型落葉堆肥實驗中，LB 篩選的菌種無法在落葉堆中生長，但是馬鈴薯培養基篩選出來的 2 號、3 號菌及 4 號菌不但在落葉堆中順利成長快速，而且肉眼或顯微鏡下都可以明顯看見葉脈及葉肉被分解的情形。



## 六、2 號菌為 *Rhizopus oryzae*(米根黴菌)，4 號菌為 *Aspergillus sp*(曲霉菌)

透過生技公司鑑定，確認篩選出的 2 號菌為 *Rhizopus oryzae*(米根黴菌)，3 號菌為 *Serratia nematodiphila*(沙雷氏菌屬)，4 號菌為 *Aspergillus sp.*(曲霉菌)，由於 3 號菌 *Serratia nematodiphila*(沙雷氏菌屬)有致病的疑慮，故不進行大型堆肥實驗。*Rhizopus oryzae*(米根黴菌)及 *Aspergillus sp.*(曲霉菌)不是一般市面上所用的落葉分解菌，一般市售菌多用所使用 EM 菌(芽孢桿菌、光合細菌、乳酸菌、酵母菌和放線菌)(林，2011)，雖然菌種不同，但對落葉分



解都有成效。

*Rhizopus oryzae*(米根黴菌)

*Aspergillus sp.*(曲霉菌)

## 七、*Rhizopus oryzae* 分解印度橡膠葉的效果最佳

在大型落葉堆肥實驗中，發現 *Rhizopus oryzae* 及 *Aspergillus sp.*在分解落葉上有明顯功效，進一步觀察印度橡膠葉分解狀況，發現，*Rhizopus oryzae* 對印度橡膠葉的分解情況比市售菌效果更好，會將葉肉及葉脈完全分解至只剩透明角質層。查閱文獻發現 *Rhizopus oryzae* 會分泌脂肪酶(Jiao L et al. 2018)，推論脂肪酶可以加速油性葉子分解的效率。

## 柒、結論與建議

透過大自然落葉菌種的尋找與培育，進一步發現落葉分解的奧秘，也了解落葉分解過程中影響的因素及分解的現象。*Rhizopus oryzae*(米根黴菌)長久以來為人類用於食品發酵及食物製作，經由這次實驗，意外發現它也能在大自然中扮演超級分解者，尤其對油脂性落葉分解效率比市售菌高，具有單一性分解的強大功效，未來可針對這個菌種進一步研究，希望找出最佳落葉菌的培育條件，進一步進行基因分析，期望能找出落葉分解酵素，進行大量生產，提升落葉分解效率。

## 參考資料

- 王暉崙、邱耀慶、郭主歆。(2007)。解開「澱粉~碘」的藍色密碼。中華民國第 47 屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 林祺銘、林偉誠、陳元愷 (2011)。落葉變黃金—創造永續生活。中華民國第 51 屆中小學科學展覽會作品說明書。
- 陳月青(2006)。校園落葉堆肥製作之研究-以桃園縣國民小學為例。國立屏東科技大學／熱帶農業暨國際合作系所。 [https://ndltd.ncl.edu.tw/cgi-bin/gsc32/gscweb.cgi/ccd=rI9vuS/search?q=kwc="落葉堆肥製作"&searchmode=basichttp://web.nchu.edu.tw/~SSTC/q\\_a.htm](https://ndltd.ncl.edu.tw/cgi-bin/gsc32/gscweb.cgi/ccd=rI9vuS/search?q=kwc=)
- 張明輝、簡宣裕(2012)。有機堆肥製造技術。 <http://ir.tari.gov.tw:8080/bitstream/345210000/5715/2/no169-8.pdf>
- 黃彥翔。(2017)。微生物純化-碟畫法(四區劃線法)<https://www.youtube.com/watch?v=uKZdEqbdVrs>
- 鄭永銘。(2014)。發酵的科學(三)小米酒。<HTTP://WWW.MASTERS.TW/6371/發酵的科學3>
- Haiyan。(2011)。黴菌 <http://www.zwbk.org/MyLemmaShow.aspx?zh=zh-tw&lid=180622>
- Jiao L<sup>1</sup>, Zhou Q<sup>1</sup>, Su Z<sup>1</sup>, Xu L<sup>1</sup>, Yan Y<sup>2</sup>。(2018)。*High-level extracellular production of Rhizopus oryzae lipase in Pichia pastoris via a strategy combining optimization of gene-copy number with co-expression of ERAD-related proteins.* 2018 Jul;147:1-12. doi: 10.1016

## 【評語】 032907

參賽者在看到落葉上的斑點，發想從中篩選可以分解落葉的菌種，並自製儀器，有系統地進行一系列的實驗去了解落葉分解過程中影響的因素及分解的現象。透過分析不同來自落葉的菌種之分解落葉的能力，並與市售菌進行比較，意外發現大自然中的超級分解者，此菌種除了可分解纖維，對落葉的油脂亦有很好的分解效應，在分離定序後發現是常用於食品的米黴菌，是相當有價值的研究，值得未來針對這個菌種作進一步深入的研究，但研究過程宜加強研究再現性的確定以及數據的統計分析。

# 摘要

校園乾枯葉片中有許多不同形狀及顏色斑點，閱讀文獻，發現它們是微生物，可以分解落葉，為了了解這些微生物的作用，我自製搖晃培養儀、恆溫培養箱、LB培養液(基)、馬鈴薯培養液(基)，以培養多樣菌種。經過一連串純化培養後，共篩選出10個菌種進行纖維素分解及落葉分解實驗。研究結果顯示由馬鈴薯培養基篩選出來的2號菌、3號菌及4號菌可以將纖維素分解成澱粉或葡萄糖；落葉堆肥實驗中，2號菌及4號菌能有效進行落葉分解，其中2號菌對印度橡膠葉的分解優於市售菌；堆肥腐熟度實驗中，2號菌落葉下降高度是市售菌的1.57倍，小白菜第一天發芽率是市售菌的2.2倍。經生技公司檢驗2號菌為 *Rhizopus oryzae*(米根黴菌)，它不但是釀酒幫手，更是落分解高手。

## 壹、研究動機

在生物課中老師提到的生態塔構成，其中微生物就扮演分解者的角色。仔細觀察校園落葉堆肥區的葉子上，發現有各種菌，這些微生物參與分解的過程，它們是如何進行分解？這樣的想法下開始我對落葉菌種的研究。上網搜尋菌種需要好氧及恆溫培養，但是學校沒有這些設備，所以利用身邊的資源，設法將小腿搖擺機改成搖晃儀，並透過電腦程式設計恆溫培養箱，接著著手進行實驗。一開始培養時發現培養皿容易受汙染，所以在培養單一菌種上遇到困難，後來改用高壓蒸氣鍋消毒器具及煮培養液(基)，並在紫外線烘碗機中進行菌種培養後，才讓實驗持續進行。我測試了10種菌種，進行了落葉分解實驗、甲基纖維素分解實驗，最後選擇了生長速度較快的菌種來分解落葉，藉此找出有效的落葉分解菌，提昇落葉分解速度。

## 貳、研究目的及架構

- 一、利用不同培養液(基)培養不同菌種。
- 二、從落葉中取出不同菌種並純化培養。
- 三、測試不同菌種對落葉的分解程度。
- 四、研究不同菌種對甲基纖維素的分解程度。
- 五、比較自培菌與市售菌對落葉分解效率的差異。

## 參、研究設備及器材

### 一、實驗器材

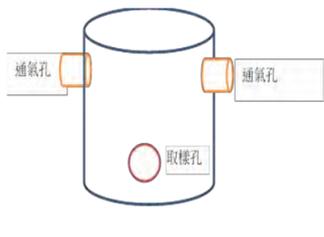
- (一)自製恆溫箱 (二)自製恆溫搖晃儀 (三)分光光度計



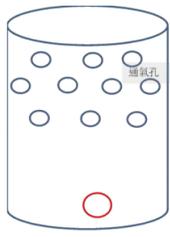
### (四)解剖顯微鏡



### (五)小型堆肥桶



### (六)大型堆肥桶



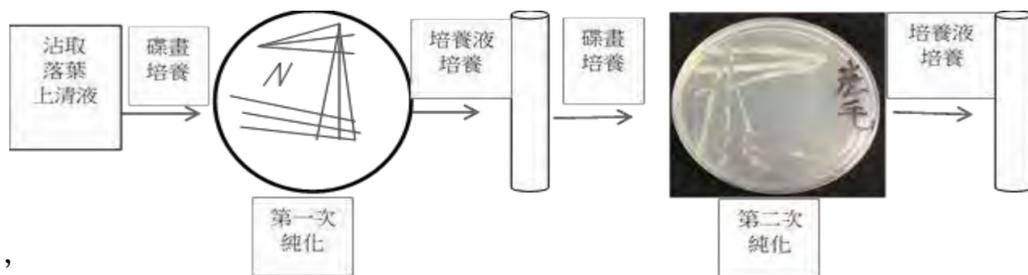
## 肆、研究過程及方法

### 【研究一】利用不同培養液(基)培養不同菌種

- (一)製作LB培養液(基)及馬鈴薯培養液(基)
- (二)不同培養基培養不同的菌種
  - 1.LB培養液(基)：培養細菌。
  - 2.馬鈴薯葡萄糖培養液(基)：培養放線菌和芽胞桿菌。
  - 3.馬鈴薯蔗糖培養液(基)：培養真菌。

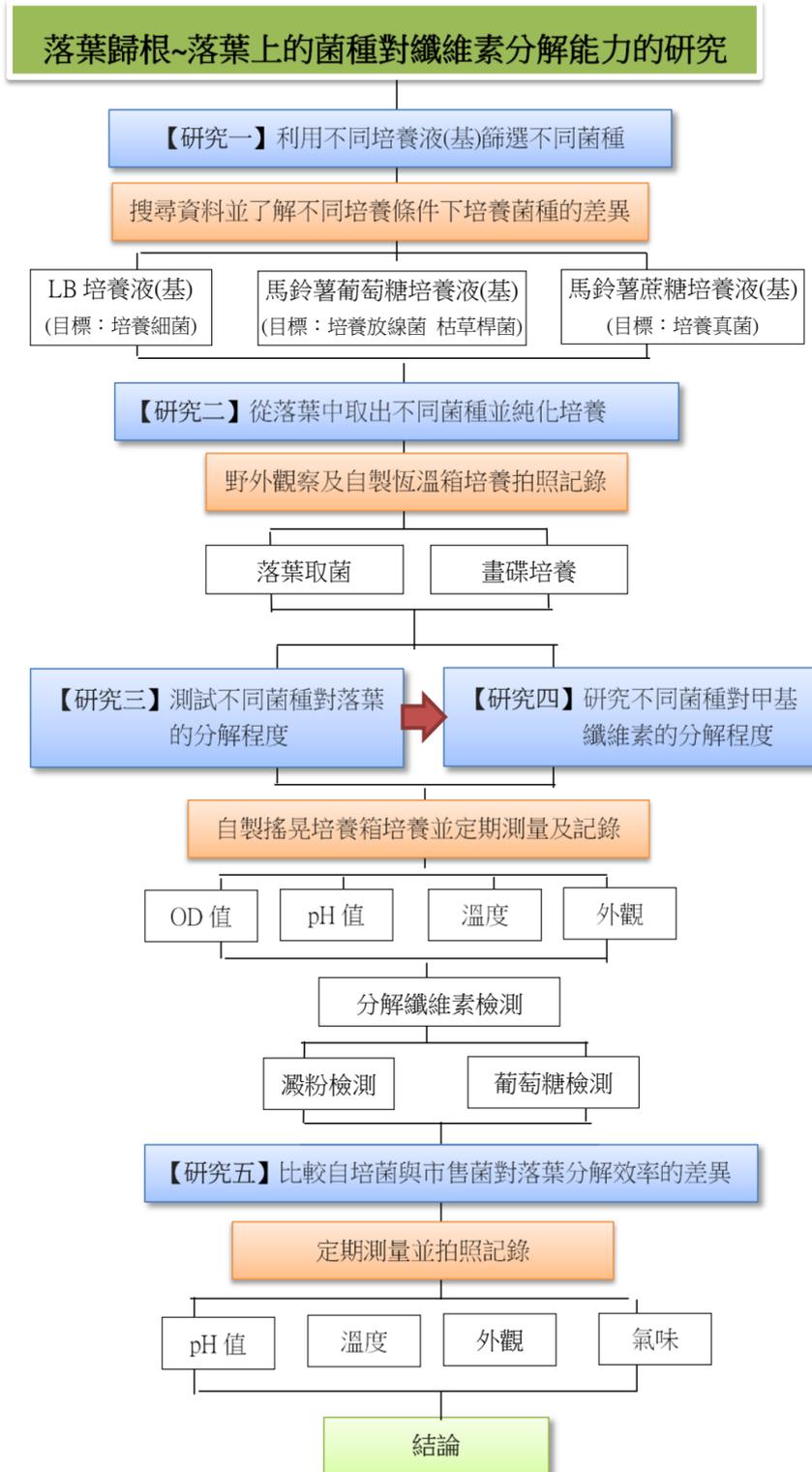
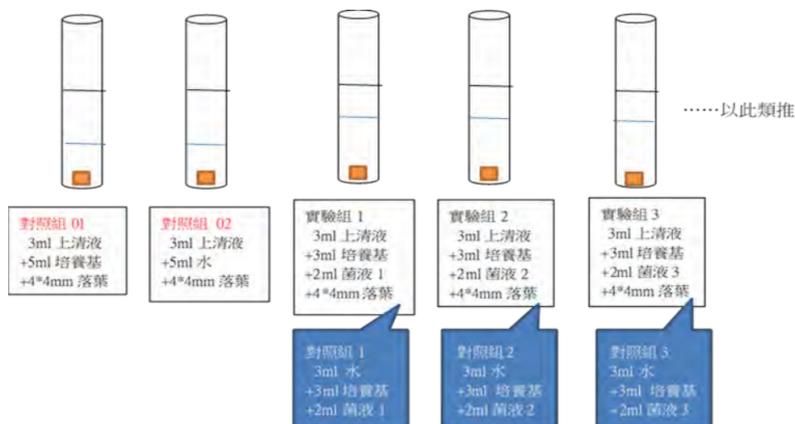
### 【研究二】從落葉中取出不同菌種並純化培養

- (一)將落葉：清水=1：10放在搖晃儀搖晃。
- (二)沾上清液，以四區劃線法畫在LB及馬鈴薯培養基上。
- (三)將上述培養基放入27°C~29°C恆溫箱中培養24小時。
- (四)挑選外觀、大小、色澤不同的單一菌落，放入5毫升培養液並進行二次純化培養。
- (五)共挑LB6菌，馬鈴薯(葡)3菌，馬鈴薯(蔗)1菌。



### 【研究三】測試不同菌種對落葉的分解程度

- (一)菌液分解落葉實驗設計
  - A.上清液製作
  - B.落葉樣本製作
  - C.菌種生長情形檢測
  - D.依據步驟ABC進行二重複實驗。
- (二)不同菌種分解纖維素為澱粉及葡萄糖的檢測。

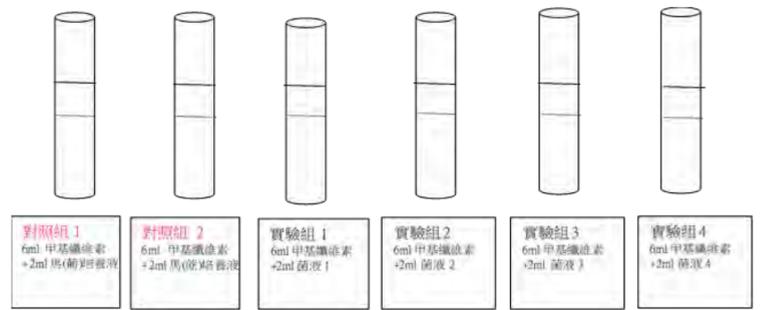


## 【研究四】研究不同菌種對甲基纖維素的分解程度

### (一)菌液分解甲基纖維素實驗設計

- 1.調製0.5%的甲基纖維素液體，並分別加入試管中。
- 2.將試管放入搖晃儀中搖晃，兩天檢測溫度、OD及pH值，共計6天。
- 3.依據步驟2~4進行二重複實驗。

### (二)不同菌種分解纖維素為澱粉及葡萄糖的檢測。



## 【研究五】比較自培菌與市售菌對落葉分解效率的差異

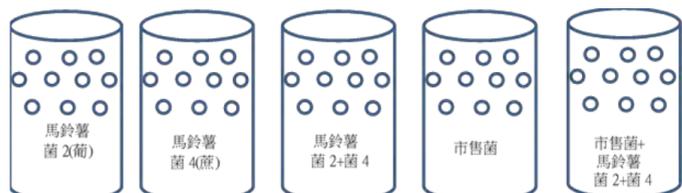
### (一)小型堆肥桶實驗

- 1.菌種篩選及大量培養
- 2.調整碳氮比
- 3.進行落葉堆肥實驗



### (二)大型堆肥桶實驗

- 1.菌種篩選及大量培養(馬鈴薯菌2、馬鈴薯菌4、市售菌)
- 2.調整碳氮比
- 3.進行落葉堆肥實驗

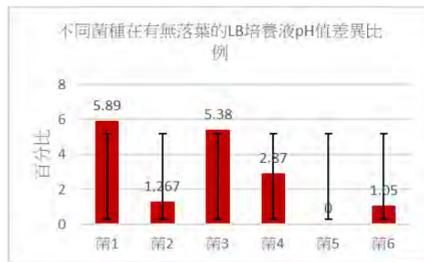
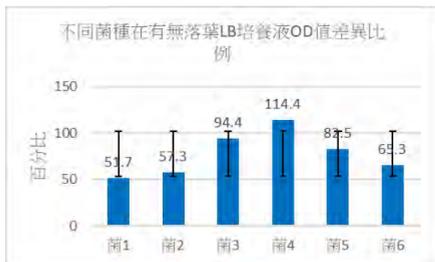


## 五、研究結果

### 第一部分：LB培養基篩選出來的菌種對落葉分解的結果

#### 一、除清水組和實驗4組外，其他組別OD都朝鹼性發展

在有無落葉的LB培養液下菌種OD值差異比例由高至低依序為菌4(114.4%)、菌3(94.4%)、菌5(82.5%)、菌6(65.3%)、菌2(57.3%)、菌1(51.7%)；在有無落葉的LB培養液下菌種pH值差異比例由高至低依序為菌1(5.89%)、菌3(5.38%)、菌4(2.87%)、菌2(1.267%)、菌6(1.05%)、菌5(0%)



#### 二、LB篩選的6株菌株無法分解落葉中的纖維素

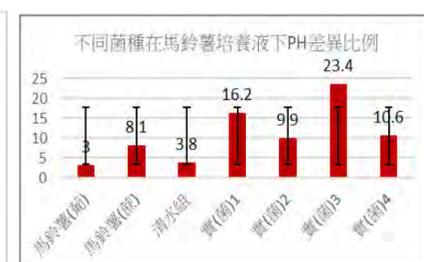
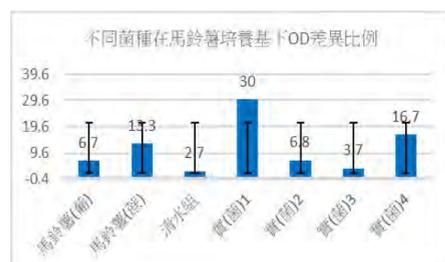
使用碘液檢測以LB實驗組的落葉培養液，滴入碘液後，顏色由原本深褐色逐漸轉為透明，繼續滴入菌液則呈現淡黃褐色，無法測出澱粉反應；使用本氏液檢測時，發現加熱前後顏色皆是淡綠色(黃色菌液+藍色本氏液)，無法測出葡萄糖反應



### 第二部分：馬鈴薯培養基篩選出來的菌種對落葉分解的結果

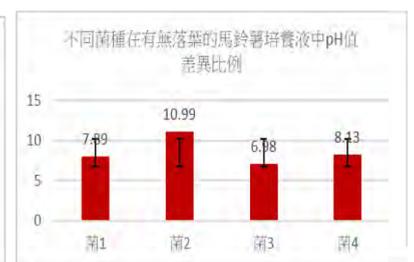
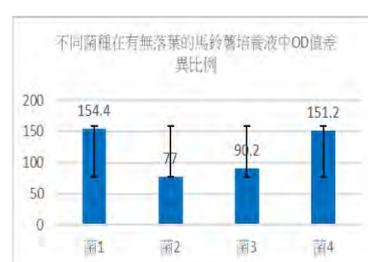
#### 一、有落葉實驗前後OD值差異比例最大的是實(菌)1，pH值差異比例最大的是實(菌)3

在有落葉的馬鈴薯培養液下菌種OD值差異比例由高至低依序為實1(30%)、實4(16.7%)、馬鈴薯(蔗)(13.3%)、實2(6.8%)、馬鈴薯(葡)(6.7%)、實3(3.7%)、清水組(2.7%)；在有落葉的培養液下菌種pH值差異由高至低依序為實3(23.4%)、實1(16.2%)、實4(10.6%)、實2(9.9%)、馬鈴薯(蔗)(8.1%)、清水組(3.8%)、馬鈴薯(葡)(3%)



#### 二、在有無落葉實驗下OD值差異比例最大的是菌4，pH值差異比例最大的是菌2

在有無落葉的馬鈴薯培養液下菌種OD值差異比例由高至低依序為菌4(151.2%)、菌1(146.9%)、菌3(90.2%)、菌2(77%)；在有無落葉的馬鈴薯培養液下菌種pH值差異比例由高至低依序為菌2(10.99%)、菌4(8.13%)、菌1(7.89%)、菌3(6.98%)。



### 三、馬鈴薯培養基篩選的4個菌種會分解落葉纖維素產生葡萄糖

使用碘液檢測實驗組的落葉培養液，滴入碘液後，顏色由原本深褐色逐漸轉為淡黃褐色，只有對照組2(蔗糖組)呈現綠色，無法建測出澱粉。使用本氏液檢測時，發現4組菌加熱前為淡綠色，加熱後皆呈現顏色深淺不一的黃褐色，證實液體中含有葡萄糖，代表可以分解落葉纖維素。



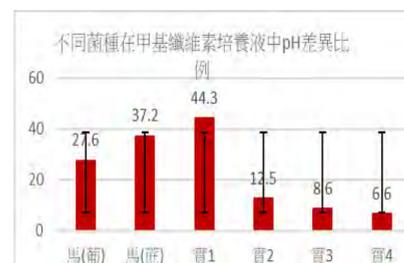
### 四、試管中落葉葉片分解情況有差異

組別	馬鈴薯(葡)		馬鈴薯(蔗)		清水組		實驗 1	
	實驗前	實驗後	實驗前	實驗後	實驗前	實驗後	實驗前	實驗後
照片及說明								
	沒有明顯變化		沒有明顯變化		沒有明顯變化		葉面上細小葉脈消失	
組別	實驗 2		實驗 3		實驗 4		實驗情形	
	實驗前	實驗後	實驗前	實驗後	實驗前	實驗後		
照片及說明							馬鈴薯落葉培養液分解實驗	
	葉面上細小葉脈明顯消失		葉面上細小葉脈明顯消失		葉面上細小葉脈明顯消失			

### 第三部分：馬鈴薯培養基篩選出來的菌種對甲基纖維素分解的結果

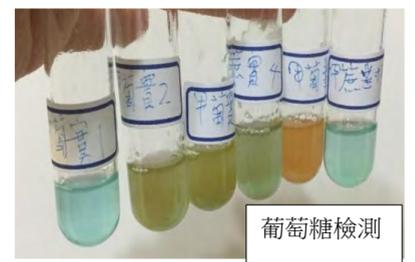
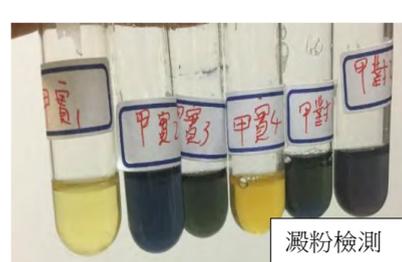
#### 一、甲基纖維素實驗OD值差異比例最大的是馬鈴薯(葡)組，pH值差異比例最大的是菌1

在甲基培養液OD值差異比例由高至低依序為馬鈴薯(葡)(544.1%)、菌1(325.5%)、菌2(227.9%)、馬鈴薯(蔗)(201.7%)、菌4(170.6%)、菌3(95.6%)；在甲基培養液下菌種pH值差異比例由高至低依序為菌1(44.3%)、馬鈴薯(蔗)(37.2%)、馬鈴薯(葡)(27.6%)、菌2(12.5%)、菌3(8.6%)、菌4(6.6%)。



#### 二、2號、3號、4號菌會分解甲基纖維素，產生澱粉或葡萄糖

使用碘液檢測，滴入碘液後，實(菌)2及實(菌)3的顏色由原本褐色逐漸轉為深藍色，對照組1(葡萄糖)及2(蔗糖組)也呈現深淺不一的藍色，推測培養液含有澱粉。使用本氏液檢測時，發現加熱後實(菌)2、實(菌)3、實(菌)4呈現深淺不一的綠色，推測培養液含有葡萄糖。

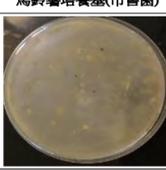
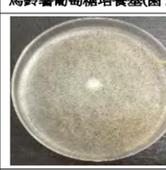
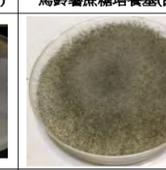
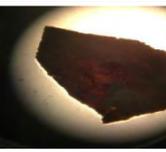
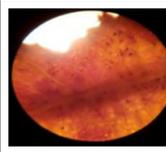
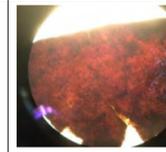
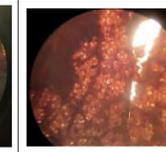


## 第四部份：利用自培菌進行落葉堆肥實驗

### A. 小型堆肥桶實驗

#### 一、馬鈴薯培養基篩選出來的菌種可以分解落葉

四種菌種在落葉分解上有差異，市售菌的落葉透光度低；馬鈴薯菌2的落葉在解剖顯微鏡下具有透光性；馬鈴薯菌3的落葉有纖維分離，具有透光性；馬鈴薯菌4落葉表皮分離，具透光性。

菌種	馬鈴薯培養基(市售菌)	馬鈴薯葡萄糖培養基(菌2)	馬鈴薯葡萄糖培養基(菌3)	馬鈴薯蔗糖培養基(菌4)
菌種生長樣貌				
落葉堆肥分解狀態				
說明	落葉保持完整樣貌，透光度較低	落葉邊緣碎裂，在顯微鏡下具有透光性	落葉邊原有細小纖維分離，在顯微鏡下具有透光性。	落葉表皮分離情形明顯，在顯微鏡下具有透光性。

#### 二、菌2及菌4生長情形有差異

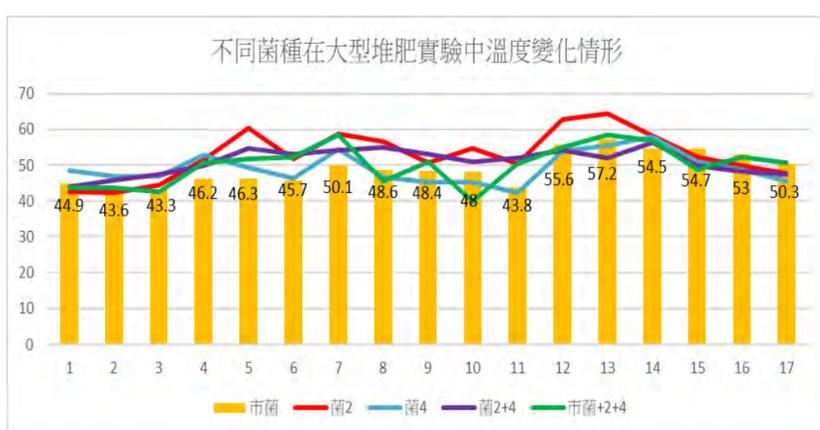
為了進一步了解菌2、菌4的生長情形，因此進行兩種菌的生長實驗，從下圖中可以很明顯看出菌2的OD值都比菌4高，而且隨著時間增加兩者之間的差異也加大。



### B. 大型堆肥桶實驗

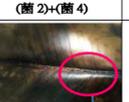
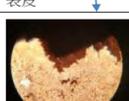
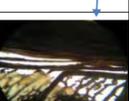
#### 一、大型落葉堆肥中以菌2平均溫度最高，市售菌平均溫度最低

在大型落葉堆肥桶中菌種平均溫度由高到低依序為菌2(52.91°C)、菌2+菌4(51.09°C)、市菌+菌2+菌4(50.13°C)、菌4(49.26°C)、市售菌(49.07°C)。



#### 二、菌2落葉高度降低最多，對印度橡膠葉的分解情況最佳

堆肥桶落葉下降高度由高到低為菌2降30公分(50%)、菌2+菌4降22公分(37%)、市售+菌2+菌4降20公分(36%)、菌4降25公分(33%)、市售菌降18公分(32%)。印度橡膠葉分解中菌2透光度最好

菌種	馬鈴薯(菌2)	馬鈴薯(菌4)	馬鈴薯(菌2+菌4)	市售菌	市售菌+馬鈴薯(菌2+菌4)
印度橡膠葉					
分解情形	明顯透光性，且有地方只留下透明的表皮	表面光澤消失，葉脈附近有明顯裂痕	保有光澤但葉脈及部分葉肉變黑	有明顯的變薄表皮脫落及葉脈斷裂	有部分破洞，且葉脈軟化情形明顯
分解放大圖					
分解情形	在顯微鏡下只留下透明的表皮，葉脈葉肉被分解消失	葉肉被分解不見，只留下葉脈	葉子顏色變深，葉脈變淡，但沒出現裂痕	部分葉肉被分解，且葉脈有明顯斷裂	上層葉肉消失留下明顯葉脈

## 陸、討論

#### 一、LB篩選出來的6個菌種無法分解落葉纖維素

以LB培養基篩選出來的6個菌種進行試管落葉分解試驗時，發現6個菌種進行碘液或本氏液檢測時，都沒有辦法檢測出澱粉或葡萄糖的反應，因此推論這6個菌種無法分解落葉纖維素。

#### 二、馬鈴薯培養基篩選的2號菌、3號菌及4號菌可以分解甲基纖維素

在甲基纖維素實驗中，發現2號及3號菌在碘液檢測時會呈現藍黑色，2號、3號菌及4號菌在本氏液檢測時會呈現深淺不一的綠色，因此推論這三個菌會分泌澱粉酶及纖維素酶(鄭，2014)，進一步將甲基纖維素分解成澱粉及葡萄糖。

#### 三、2號菌、4號菌分解落葉的效果優於市售菌

在落葉堆肥實驗中，馬鈴薯培養基篩選出來的2號及4號菌在落葉堆中成長快速，落葉下降高度比市售菌多，而且肉眼或顯微鏡下都可以明顯看見葉脈及葉肉被分解的情形，效果比市售菌明顯。



#### 四、2號菌為Rhizopus oryzae(米根黴菌)，4號菌為Aspergillus sp(曲霉菌)

透過生技公司鑑定，確認篩選出的2號菌為Rhizopus oryzae(米根黴菌)，4號菌為Aspergillus sp.(曲霉菌)，Rhizopus oryzae(米根黴菌)及Aspergillus sp.(曲霉菌)不是一般市面上所用的落葉分解菌，一般市售菌多用所使用EM菌(芽孢桿菌、光合細菌、乳酸菌、酵母菌和放線菌)(林，2011)，然菌種不同，但對落葉分解都有成效。



#### 五、Rhizopus oryzae(米根黴菌)分解印度橡膠葉效果最佳

在大型落葉堆肥實驗中，發現Rhizopus oryzae及Aspergillus sp.在分解落葉上有明顯功效，進一步觀察印度橡膠葉分解狀況，發現，Rhizopus oryzae對印度橡膠葉的分解情況比市售菌效果更好，會將葉肉及葉脈完全分解至只剩透明角質層。查閱文獻發現Rhizopus oryzae會分泌脂肪酶(Jiao L et al. 2018)，推論脂肪酶可以加速油性葉子分解的效率。

## 柒、結論與建議

透過大自然落葉菌種的尋找與培育，進一步發現落葉分解的奧秘，也了解落葉分解過程中影響的因素及分解的現象。Rhizopus oryzae(米根黴菌)長久以來為人類用於食品發酵及食物製作，經由這次實驗，意外發現它也能在大自然中扮演超級分解者，尤其對油脂性落葉分解效率比市售菌高，具有單一性分解的強大功效，未來可針對這個菌種進一步研究，希望找出最佳落葉菌的培育條件，進一步進行基因分析，期望能找出落葉分解酵素，進行大量生產，提升落葉分解效率。

### 參考資料

王暉輝、邱耀慶、郭主歌。(2007)。解開「澱粉~碘」的藍色密碼。中華民國第47屆中小學科學展覽會作品說明書。  
林祺銘、林偉誠、陳元愷(2011)。落葉變黃金—創造永續生活。中華民國第51屆中小學科學展覽會作品說明書。  
陳月青(2006)。校園落葉堆肥製作之研究-以桃園縣國民小學為例。國立屏東科技大學/熱帶農業暨國際合作系所。https://nditd.ncl.edu.tw/cgi-bin/gs32/gsweb.cgi/ccd=r19vuS/search?q=“落葉堆肥製作”&searchmode=basichttp://web.nchu.edu.tw/~SSTC/q\_a.htm

張明輝、簡宜裕(2012)。有機堆肥製造技術。  
http://ir.tari.gov.tw:8080/bitstream/345210000/5715/2/no169-8.pdf  
黃彥翔。(2017)。微生物純化-碟畫法(四區劃線法)https://www.youtube.com/watch?v=uKZdEqbdVrs鄭永銘。(2014)。發酵的科學(三)小米酒。HTTP://WWW.MASTERS.TW/6371/發酵的科學3  
Haiyan。(2011)。黴菌 http://www.zwbk.org/MyLemmaShow.aspx?zh=zh-tw&lid=180622  
Jiao L1, Zhou Q1, Su Z1, Xu L1, Yan Y2。(2018)。High-level extracellular production of Rhizopus oryzae lipase in Pichia pastoris via a strategy combining optimization of gene-copy number with co-expression of ERAD-related proteins.2018 Jul;147:1-12. doi: 10.1016