



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 201925457 A

(43) 公開日：中華民國 108 (2019) 年 07 月 01 日

(21) 申請案號：106142825

(22) 申請日：中華民國 106 (2017) 年 12 月 06 日

(51) Int. Cl.：

C12N1/20 (2006.01)

A01N63/02 (2006.01)

C12R1/07 (2006.01)

(71) 申請人：吳振皓 (中華民國) WU, CHEN HAO (TW)

新竹縣竹東鎮下員山路 250 巷 40 號

(72) 發明人：吳振皓 WU, CHEN HAO (TW)

(74) 代理人：洪蘭心；白裕榮

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：7 項 圖式數：13 共 29 頁

(54) 名稱

液化澱粉芽孢桿菌菌株、包含其之微生物製劑及其用途

A BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS STRAIN, MICROBIAL FORMULATION COMPRISING THE SAME AND USE THEREOF

(57) 摘要

本發明提供一種液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) BA01 菌株。該液化澱粉芽孢桿菌 BA01 菌株具有溶磷能力，且能生產蛋白酶及生長素。該液化澱粉芽孢桿菌 BA01 菌株亦可促進植物生長且具有對病原菌拮抗功效。本發明亦提供包含該液化澱粉芽孢桿菌 BA01 菌株之微生物製劑及該菌株用於生產蛋白酶之用途。

The present invention provides a *Bacillus amyloliquefaciens* strain BA01. The *Bacillus amyloliquefaciens* strain BA01 has phosphate solubilizing, and produces protease and indoleacetic acid. The *Bacillus amyloliquefaciens* strain BA01 also promotes plants growth and provides antagonistic effect against pathogenic bacteria. The present invention also provides a microbial preparation comprising the *Bacillus amyloliquefaciens* strain BA01 and the use of the strain for proteinase production.

指定代表圖：

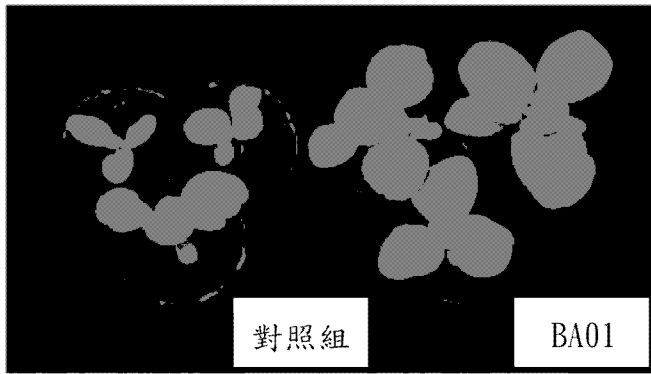


圖 6A

【發明說明書】

【中文發明名稱】 液化澱粉芽孢桿菌菌株、包含其之微生物製劑及其用途

【英文發明名稱】 A BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS STRAIN, MICROBIAL FORMULATION COMPRISING THE SAME AND USE THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於一種液化澱粉芽孢桿菌菌株、包含其之微生物製劑及其用途。

【先前技術】

【0002】 土壤微生物製劑為藉由微生物增進作物產量與品質之微生物肥料。微生物肥料（或稱微生物製劑）依肥料管理相關法規之定義為其成分含有具有活性微生物或休眠孢子，如細菌、放線菌、真菌、藻類及其代謝產物之特定製劑，應用於作物生產具有提供植物養分或促進養分利用等功效之物品，而依功能可分為溶磷微生物肥料、溶鉀微生物肥料及有機質分解微生物肥料等。於台灣農糧署公告之國產微生物肥料中，微生物肥料之菌種多為芽孢桿菌屬（*Bacillus*）之溶磷菌，鮮有同時具有肥料所需溶磷、溶鉀、促進植物生長，甚或抑菌等多種功效之菌種。

【0003】 現有同時具有多種功效之微生物肥料多為複合多種菌種或其他肥料成分來達成，並無同時兼備多種功效之單一菌種。

【0004】 是以，如有兼具多種功效之菌種，對於微生物肥料之發展俾其助益。

【發明內容】

【0005】 本發明不可預期地發現特定的液化澱粉芽孢桿菌（*Bacillus amyloliquefaciens*）（命名為「BA01」）具有極佳的溶磷、生產生長素（吲哚乙酸）及生產蛋白酶之功能，不僅可增進土壤中溶磷功效，且有助植物生長並抑病，所生產之蛋白酶亦有廣泛的應用。

【0006】 因此，本發明提供一種液化澱粉芽孢桿菌（*Bacillus amyloliquefaciens*）BA01菌株，其在台灣財團法人食品工業發展研究院的寄存編號為BCRC910798。

【0007】 此外，本發明亦提供一種微生物製劑，包括如前所述之液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株及/或菌株之培養物作為有效成分。

【0008】 再者，本發明亦提供一種液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株作為蛋白酶生產之用途。

【0009】 本發明之其他目的及優點一部分記載於下述說明中，或可透過本發明實施例而理解，應當理解前文之發明內容及下文之實施方式僅為例示性及闡釋性之說明，非如申請專利範圍般限定本發明。

【圖式簡單說明】

【0010】

圖1係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之菌落型態結果圖。

圖2係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之蛋白酶生產分析結果圖。

圖3A及圖3B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之溶磷分析結果圖。

圖4係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之吲哚乙酸分析結果。

圖5A係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之蛋白酶生產分析結果圖。

圖5B及圖5C係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之溶磷分析結果圖。

圖6A及圖6B係植物成長促進試驗之結果圖。

圖7係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株對病原菌之拮抗功效結果圖。

圖8係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株對另一病原菌之拮抗功效結果圖。

圖9係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株對又一病原菌之拮抗功效結果圖。

圖10A及圖10B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株代謝產物對病原菌之拮抗功效結果圖。

圖11A及圖11B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株代謝產物對另一病原菌之拮抗功效結果圖。

圖12A及圖12B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株代謝產物對又一病原菌之拮抗功效結果圖。

圖13A及圖13B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株代謝產物對又另一病原菌之拮抗功效結果圖。

【實施方式】

【0011】 於本發明中，液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株本體及/或該菌株之培養物顯示其具有植物生長促進作用。

【0012】 於本發明中，該微生物製劑為一肥料或一輔助劑。具體而言，BA01菌株及/或該菌株之培養物可製成一含有本發明菌株及/或該菌株之培養物之肥料，或將BA01菌株及/或該菌株之培養物製成一含有本發明菌株及/或該菌株之培養物之輔助劑。所製成之肥料可為一溶磷肥料（或稱溶磷菌肥料）。所製成之輔助劑可為一溶磷輔助劑、一植物生長輔助劑或其組合。

【0013】 於本發明中，所稱「肥料」主要為生物性肥料或微生物肥料，一般指含有活的微生物及/或其培養物並在使用中能獲得特定肥料效應能增加植物產量或提高品質的生物製劑。

結果可知，液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株為可生產蛋白酶之菌株。進一步地，如表1所示，將圖2所呈透明無色區域的直徑除以BA01菌株菌落直徑，可表示為蛋白酶生產效率。

【0022】 [表1]

BA01 菌株菌落直徑 (cm)	透明無色區域直徑 (cm)	蛋白酶生產效率
2.7	4.4	1.63

【0023】 [溶磷分析]

【0024】 將葡萄糖（Glucose，10g/L）、氯化鎂（MgCl₂，5g/L）、酵母萃取物（Yeast extract，2.5 g/L）、硫酸銨（(NH₄)₂SO₄，0.1g/L）、磷酸鈣（Ca₃(PO₄)₂，5g/L）溶於蒸餾水中，經滅菌後倒入無菌培養皿中，靜置等待培養基凝固。隔日觀察是否有汙染，無汙染之培養基即可作為分析所需之平板培養基。將液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株接種於平板培養基之中央，並於28°C下培養14天，結果如圖3A及圖3B所示。

【0025】 圖3A及圖3B為液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之溶磷分析結果圖，其中，圖3A為BA01菌株於此平板培養基上之生長情形，圖3B為將圖3A中培養基中央之菌株菌落洗去後之情形。如圖3B所示，於中央接種之菌株菌落及鄰近周圍處之平板培養基呈現接近透明無色，顯示其溶磷功效結果為陽性。因此，由圖3A及圖3B結果可知，液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株為溶磷菌（phosphate solubilizing bacteria，PSB）。進一步地，如表2所示，將圖3A所呈透明無色區域的直徑除以BA01菌株菌落直徑，可表示為磷溶解效率。

【0026】 [表2]

BA01 菌株菌落直徑 (cm)	透明無色區域直徑 (cm)	磷溶解效率
1.9	2	1

【0054】 再者，使用本發明配製的FM培養基培養的液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株及其所產生的代謝產物在前述各項試驗中所表現的功效與在TSB培養基中培養的BA01菌株及其所產生的代謝產物所表現的功效相似，然相較於TSB培養基，FM培養基組成成分成本低，更適合用於液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株的量化生產，俾利獲得更高商業利益。

【0055】 此外，由蛋白酶分析結果可知液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株亦應用於學術研究及商業，作為生產蛋白酶之菌株。

【符號說明】

【0056】

無

【生物材料寄存】

【0057】

財團法人食品工業發展研究所之生物資源保存及研究中心、西元2017年10月23日寄存、寄存編號為BCRC910798。

【序列表】

- <110> 吳振皓
- <120> 液化澱粉芽孢桿菌菌株、包含其之微生物製劑及其用途
- <160> 1
- <210> 1
- <211> 1373
- <212> DNA
- <213> Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum
- <223> BA01菌株之16SrDNA
- <400>

caggacgaac gctggcggcg tgcctaatac atgcaagtcg agcggacaga tgggagcttg	60
ctccctgatg ttagcggcgg acgggtgagt aacacgtggg taacctgcct gtaagactgg	120
gataactccg ggaaaccggg gctaataccg gatggttgc tgaaccgcat gggtcagaca	180
taaaagggtg ctteggctac cacttacaga tggacccgcg gcgcattagc tagttggtga	240
ggtaacggct caccaaggcg acgatgcgta gccgacctga gagggatgac ggccacactg	300
ggactgagac acggcccaga ctctacggg aggcagcagt agggaatctt ccgcaatgga	360
cgaaagtctg acggagcaac gccgcgtgag tgatgaaggt ttccggatcg taaagctctg	420
ttgttaggga agaacaagtg ccgttcaaatac agggcggcac cttgacggta cctaaccaga	480
aagccacggc taactacgtg ccagcagccg cggtataacg taggtggcaa gcgttggtccg	540
gaattattgg gcgtaaaggg ctgcagggcg gtttcttaag tctgatgtga aagcccccg	600
ctcaaccggg gagggtcatt ggaaactggg gaacttgagt gcagaagagg agagtggaat	660
tccacgtgta gcggtgaaat gcgtagagat gtggaggaac accagtggcg aaggcgactc	720
tctggtctgt aactgacgct gaggagcgaa agcgtgggga gcgaacagga ttagataccc	780
tggtagtcca cgccgtaaac gatgagtgc taaagttagg gggtttccgc cccttagtgc	840

tgcagctaac gcattaagca ctccgcctgg ggagtacggt cgcaagactg aaactcaaag	900
gaattgacgg gggcccgcac aagcgggtgga gcatgtggtt taattcgaag caacgcgaag	960
aaccttacca ggtcttgaca tcctctgaca atcctagaga taggacgtcc ccttcggggg	1020
cagagtgaca ggtggtgcat ggttgctgctc agctcgtgctc gtgagatgtt gggttaagtc	1080
ccgcaacgag cgcaaccctt gatcttagtt gccagcattc agttgggcac tctaaggtga	1140
ctgccggtga caaaccggag gaaggtgggg atgacgtcaa atcatcatgc cccttatgac	1200
ctgggctaca cacgtgctac aatggacaga acaaaggga gcgaaaccgc gaggttaagc	1260
caatcccaca aatctgttct cagttcggat cgagctctgc aactcgactg cgtgaagctg	1320
gaatcgctag taatcgcgga tcagcatgcc gcggtgaata cgttcccgga cct	1373

【序列表】

<110> 吳振皓

<120> 液化澱粉芽孢桿菌菌株、包含其之微生物製劑及其用途

<160> 1

<210> 1

<211> 1373

<212> DNA

<213> *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*

<223> BA01菌株之16SrDNA

<400>

caggacgaac gctggcggcg tgcctaatac atgcaagtcg agcggacaga tgggagcttg	60
ctccctgatg ttagcggcgg acgggtgagt aacacgtggg taacctgcct gtaagactgg	120
gataactccg ggaaaccggg gctaataccg gatggttgc tgaaccgcat gggtcagaca	180
taaaagggtg ctteggctac cacttacaga tggacccgcg gcgcattagc tagttggtga	240
ggtaacggct caccaaggcg acgatgcgta gccgacctga gagggatgac ggccacactg	300
ggactgagac acggcccaga ctctacggg aggcagcagt agggaatctt ccgcaatgga	360
cgaaagtctg acggagcaac gccgcgtgag tgatgaaggt ttccggatcg taaagctctg	420
ttgttaggga agaacaagtg ccgttcaaat agggcggcac ctgacggta cctaaccaga	480
aagccacggc taactacgtg ccagcagccg cggtaatagc taggtggcaa gcgttggtccg	540
gaattattgg gcgtaaaggg ctgcagggc gtttcttaag tctgatgtga aagccccgg	600
ctcaaccggg gagggtcatt ggaaactggg gaacttgagt gcagaagagg agagtggaat	660
tccacgtgta gcggtgaaat gcgtagagat gtggaggaac accagtggcg aaggcgactc	720
tctggtctgt aactgacgct gaggagcgaa agcgtgggga gcgaacagga ttagataccc	780
tggtagtcca cgccgtaaac gatgagtgc aagtgttagg gggtttccgc cccttagtgc	840

tgcagctaac gcattaagca ctccgcctgg ggagtacggt cgcaagactg aaactcaaag	900
gaattgacgg gggcccgcac aagcgggtgga gcatgtggtt taattcgaag caacgcgaag	960
aaccttacca ggtcttgaca tcctctgaca atcctagaga taggacgtcc ccttcggggg	1020
cagagtgaca ggtggtgcat ggttgctgctc agctcgtgctc gtgagatgtt gggttaagtc	1080
ccgcaacgag cgcaaccctt gatcttagtt gccagcattc agttgggcac tctaaggtga	1140
ctgccggtga caaaccggag gaaggtgggg atgacgtcaa atcatcatgc cccttatgac	1200
ctgggctaca cacgtgctac aatggacaga acaaagggca gcgaaaccgc gaggttaagc	1260
caatcccaca aatctgttct cagttcggat cgcagtctgc aactcgactg cgtgaagctg	1320
gaatcgctag taatcgcgga tcagcatgcc gcggtgaata cgttcccggg cct	1373



201925457

申請日：
IPC 分類：**【發明摘要】****【中文發明名稱】** 液化澱粉芽孢桿菌菌株、包含其之微生物製劑及其用途**【英文發明名稱】** A BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS STRAIN, MICROBIAL FORMULATION COMPRISING THE SAME AND USE THEREOF**【中文】**

本發明提供一種液化澱粉芽孢桿菌（*Bacillus amyloliquefaciens*）BA01菌株。該液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株具有溶磷能力，且能生產蛋白酶及生長素。該液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株亦可促進植物生長且具有對病原菌拮抗功效。本發明亦提供包含該液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之微生物製劑及該菌株用於生產蛋白酶之用途。

【英文】

The present invention provides a *Bacillus amyloliquefaciens* strain BA01. The *Bacillus amyloliquefaciens* strain BA01 has phosphate solubilizing, and produces protease and indoleacetic acid. The *Bacillus amyloliquefaciens* strain BA01 also promotes plants growth and provides antagonistic effect against pathogenic bacteria. The present invention also provides a microbial preparation comprising the *Bacillus amyloliquefaciens* strain BA01 and the use of the strain for proteinase production.

【指定代表圖】 圖6A**【代表圖之符號簡單說明】** 無

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種液化澱粉芽孢桿菌（*Bacillus amyloliquefaciens*）BA01菌株，其在台灣財團法人食品工業發展研究院的寄存編號為BCRC910798。

【第2項】如申請專利範圍第1項所述之菌株，其中，該菌株本體及/或該菌株之培養物顯示植物生長促進作用及植物病害防除作用。

【第3項】一種微生物制劑，包括如申請專利範圍第1項所述之菌株及/或菌株之培養物作為有效成分。

【第4項】如申請專利範圍第3項所述之微生物制劑，其中，該微生物製劑為一肥料、一輔助劑或其組合。

【第5項】如申請專利範圍第4項所述之微生物制劑，其中，該肥料為一溶磷肥料。

【第6項】如申請專利範圍第4項所述之微生物制劑，其中，該輔助劑為一溶磷輔助劑、一植物生長輔助劑或其組合。

【第7項】一種如申請專利範圍第1項所述之液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株作為蛋白酶生產之用途。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 液化澱粉芽孢桿菌菌株、包含其之微生物製劑及其用途

【英文發明名稱】 A BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS STRAIN, MICROBIAL FORMULATION COMPRISING THE SAME AND USE THEREOF

【技術領域】

【0001】 芽孢桿菌菌株、包含其之微生物製劑及其用途。

【先前技術】

【0002】 土壤微生物製劑為藉由微生物增進作物產量與品質之微生物肥料。微生物肥料（或稱微生物製劑）依肥料管理相關法規之定義為其成分含有具有活性微生物或休眠孢子，如細菌、放線菌、真菌、藻類及其代謝產物之特定製劑，應用於作物生產具有提供植物養分或促進養分利用等功效之物品，而依功能可分為溶磷微生物肥料、溶鉀微生物肥料及有機質分解微生物肥料等。於台灣農糧署公告之國產微生物肥料中，微生物肥料之菌種多為芽孢桿菌屬（*Bacillus*）之溶磷菌，鮮有同時具有肥料所需溶磷、溶鉀、促進植物生長，甚或抑菌等多種功效之菌種。

【0003】 現有同時具有多種功效之微生物肥料多為複合多種菌種或其他肥料成分來達成，並無同時兼備多種功效之單一菌種。

【0004】 是以，如有兼具多種功效之菌種，對於微生物肥料之發展俾其助益。

【發明內容】

【0005】 本發明不可預期地發現特定的液化澱粉芽孢桿菌（*Bacillus amyloliquefaciens*）（命名為「BA01」）具有極佳的溶磷、生產生長素（吲哚乙酸）及生產蛋白酶之功能，不僅可增進土壤中溶磷功效，且有助植物生長並抑病，所生產之蛋白酶亦有廣泛的應用。

【0006】 因此，本發明提供一種液化澱粉芽孢桿菌（*Bacillus amyloliquefaciens*）BA01菌株，其在台灣財團法人食品工業發展研究院的寄存編號為BCRC910798。

【0007】 此外，本發明亦提供一種微生物製劑，包括如前所述之液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株及/或菌株之培養物作為有效成分。

【0008】 再者，本發明亦提供一種液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株作為蛋白酶生產之用途。

【0009】 本發明之其他目的及優點一部分記載於下述說明中，或可透過本發明實施例而理解，應當理解前文之發明內容及下文之實施方式僅為例示性及闡釋性之說明，非如申請專利範圍般限定本發明。

【圖式簡單說明】

【0010】

圖1係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之菌落型態結果圖。

圖2係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之蛋白酶生產分析結果圖。

圖3A及圖3B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之溶磷分析結果圖。

圖4係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之吲哚乙酸分析結果。

圖5A係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之蛋白酶生產分析結果圖。

圖5B及圖5C係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之溶磷分析結果圖。

圖6A及圖6B係植物成長促進試驗之結果圖。

圖7係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株對病原菌之拮抗功效結果圖。

圖8係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株對另一病原菌之拮抗功效結果圖。

圖9係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株對又一病原菌之拮抗功效結果圖。

圖10A及圖10B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株代謝產物對病原菌之拮抗功效結果圖。

圖11A及圖11B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株代謝產物對另一病原菌之拮抗功效結果圖。

圖12A及圖12B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株代謝產物對又一病原菌之拮抗功效結果圖。

圖13A及圖13B係液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株代謝產物對又另一病原菌之拮抗功效結果圖。

【實施方式】

【0011】 於本發明中，液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株本體及/或該菌株之培養物顯示其具有植物生長促進作用。

【0012】 於本發明中，該微生物製劑為一肥料或一輔助劑。具體而言，BA01菌株及/或該菌株之培養物可製成一含有本發明菌株及/或該菌株之培養物之肥料，或將BA01菌株及/或該菌株之培養物製成一含有本發明菌株及/或該菌株之培養物之輔助劑。所製成之肥料可為一溶磷肥料（或稱溶磷菌肥料）。所製成之輔助劑可為一溶磷輔助劑、一植物生長輔助劑或其組合。

【0013】 於本發明中，所稱「肥料」主要為生物性肥料或微生物肥料，一般指含有活的微生物及/或其培養物並在使用中能獲得特定肥料效應能增加植物產量或提高品質的生物製劑。

結果可知，液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株為可生產蛋白酶之菌株。進一步地，如表1所示，將圖2所呈透明無色區域的直徑除以BA01菌株菌落直徑，可表示為蛋白酶生產效率。

【0022】 [表1]

BA01 菌株菌落直徑 (cm)	透明無色區域直徑 (cm)	蛋白酶生產效率
2.7	4.4	1.63

【0023】 [溶磷分析]

【0024】 將葡萄糖（Glucose，10g/L）、氯化鎂（MgCl₂，5g/L）、酵母萃取物（Yeast extract，2.5 g/L）、硫酸銨（(NH₄)₂SO₄，0.1g/L）、磷酸鈣（Ca₃(PO₄)₂，5g/L）溶於蒸餾水中，經滅菌後倒入無菌培養皿中，靜置等待培養基凝固。隔日觀察是否有汙染，無汙染之培養基即可作為分析所需之平板培養基。將液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株接種於平板培養基之中央，並於28℃下培養14天，結果如圖3A及圖3B所示。

【0025】 圖3A及圖3B為液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之溶磷分析結果圖，其中，圖3A為BA01菌株於此平板培養基上之生長情形，圖3B為將圖3A中培養基中央之菌株菌落洗去後之情形。如圖3B所示，於中央接種之菌株菌落及鄰近周圍處之平板培養基呈現接近透明無色，顯示其溶磷功效結果為陽性。因此，由圖3A及圖3B結果可知，液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株為溶磷菌（phosphate solubilizing bacteria，PSB）。進一步地，如表2所示，將圖3A所呈透明無色區域的直徑除以BA01菌株菌落直徑，可表示為磷溶解效率。

【0026】 [表2]

BA01 菌株菌落直徑 (cm)	透明無色區域直徑 (cm)	磷溶解效率
1.9	2	1

【0027】 [吲哚乙酸 (indoleacetic acid, IAA) 分析]

【0028】 將液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株 (10^9 CFU/ ml) 接種在5 ml含有200 μ g/ ml L-色胺酸 (L-tryptophan) 之胰蛋白酶大豆肉湯 (Tryptone Soy broth, TSB) 中，於28°C下，以160 rpm轉速搖晃，避光培養72小時。離心前述含有BA01菌株之液態培養基，並取上層懸浮液1.5 ml與1 ml的Salkowski's試劑混合，於30分鐘後觀察混合溶液，結果如圖4所示。

【0029】 圖4為液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株之吲哚乙酸分析結果。如圖4所示，相較於對照組（左），經BA01菌株培養後的液態培養基懸浮液與Salkowski's試劑混合30分鐘後呈現略帶混濁的粉紅至紅色（右），顯示經BA01菌株培養後的液態培養基懸浮液中含有可與試劑反應之吲哚乙酸（或吲哚丙酮酸或吲哚乙酰胺）。因此，由圖4可知，液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株可生產對於植物生長發育相當重要的吲哚乙酸。

【0030】 [液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株用之培養基測試]

【0031】 首先，在含有100 ml TSB培養基的250 ml錐形瓶中，接種BA01單一菌落，在28°C下，以160 rpm轉速搖晃，避光培養18小時以作為母種。接著，在含有如表3所示的不同培養基（500 ml）的1000 ml錐形瓶中，接種前述母種的孢子懸浮液（15 ml），在28°C下，以160rpm轉速搖晃，避光培養48小時。於培養後，將表3中兩組的懸浮液分別分次稀釋，並在每個稀釋液取100 μ l各自接種在TSA培養基平板上。於最大營養細胞濃度試驗中，該TSA培養基平板在28°C培養24小時後，計算營養細胞濃度。於孢子濃度試驗中，先將TSA培養基平板放入培養箱中以70°C加熱30分鐘，接著在將每個稀釋液取100 μ l各自接種在TSA培養基平板上在28°C培養24小時後，計算孢子濃度。

【0032】 [表3]

組織皆成長的較未添加之對照組來得好，顯然液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株對於小白菜生長確實有顯著功效。請一起參照表4及表5，表4為盆栽試驗收穫植株之莖、根之鮮重及試驗之種子發芽率之測定結果，表5為盆栽試驗收穫植株之莖、根之乾重測定結果。如表4所示，30天後，無施用BA01菌株懸浮液（標示為對照組）及有施用BA01菌株懸浮液之實驗組（標示為BA01）之發芽率皆達97%。如表4及表5所示結果，實驗組之組織（莖、根）之鮮重及乾重皆大於對照組，總鮮重增加了44.8%，而總乾重增加了38.33%，其中，根之乾重增加了44.4%。

【0038】 [表4]

處理	發芽指數	鮮重(g)		總鮮重(g)
		莖	根	
空白組	96.5%	2.32±0.08 a	1.22±0.05 a	3.546±0.11 a
對照組	97.4%	3.29±0.13 b	1.64±0.17 b	4.93±0.26 b
實驗組	97.2%	4.65±0.22 c	2.49±0.17 c	7.14±0.19 c
a、b 及 c：Duncan's 法則判斷各組數據相關性所標示之符號				

【0039】 [表5]

處理	乾重(g)		總乾重(g)
	莖	根	
空白組	0.26±0.03 a	0.17±0.05 a	0.43±0.07 a
對照組	0.33±0.04 b	0.27±0.05 b	0.60±0.07 b
實驗組	0.44±0.04 c	0.39±0.03 c	0.83±0.05 c
a、b 及 c：Duncan's 法則判斷各組數據相關性所標示之符號			

【0040】 由此可知，液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株確實有助於促進植物生根，增加根系發展及作物尺寸，提高礦物質和營養素的攝取量，從而促進植物生長和提高作物產量。

【0041】 [病原菌拮抗能力試驗]

【0042】 於馬鈴薯葡萄糖瓊脂（Potato dextrose agar，PDA）平板培養基上同時接種本發明BA01菌株及幾種常見於作物病害之病原菌，於25°C下進

【0054】 再者，使用本發明配製的FM培養基培養的液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株及其所產生的代謝產物在前述各項試驗中所表現的功效與在TSB培養基中培養的BA01菌株及其所產生的代謝產物所表現的功效相似，然相較於TSB培養基，FM培養基組成成分成本低，更適合用於液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株的量化生產，俾利獲得更高商業利益。

【0055】 此外，由蛋白酶分析結果可知液化澱粉芽孢桿菌BA01菌株亦應用於學術研究及商業，作為生產蛋白酶之菌株。

【符號說明】

【0056】

無

【生物材料寄存】

【0057】

財團法人食品工業發展研究所之生物資源保存及研究中心、西元2017年10月18日寄存、寄存編號為BCRC910798。