

# 中華大學生物資訊學系系統開發專題報告

## 靈芝最佳化生長

### Optimal Condition To culture *Ganoderma lingzhi*

專題組員: B10320006 羅翌璋

B10320010 林宜臻

B10320017 李昱廷

專題編號: PROJ2017-BIOINFO-103004

指導老師: 劉志俊 老師

#### 1. 摘要

許多具有靈芝作為成分的保健品，特別是在東亞和美國，具有抗癌，抗衰老和抗病毒功能等效果。靈芝作為藥用真菌已有 2000 多年的歷史，俗稱靈芝草、瑞草等，在本草綱目中也記載了有青芝、赤芝、黃芝、白芝、黑芝、紫芝這六種分類，然而到現代全部靈芝的資料被歸納之後，具有 20 種以上不同的靈芝。

靈芝的生長週期從一個孢子開始，萌發後長成單倍體菌絲，之後與自己相異的交配型配對，進行胞質融合後長出雙核的菌絲，長成子實體並在其成熟之時會有初級擔子，期內有兩個細胞核進行核融合後再進行減數分裂，經由擔子的四個小梗進入擔孢子，而子實體與菌絲體的差別是子實體的三萜類高於菌絲體。

而我們的專題主要是進行靈芝菌絲體的培養，然而為了使其在無菌的狀態下生長，我們使用了滅過菌的基底，使用的材料主要有從大賣場購得的馬鈴薯、麥子以

及實驗室培養的靈芝菌絲，並經過多次的培養來測出他們的生長速度，找出最有效率的生長模式，並且能夠將他接種到太空包/瓶中，雖然此種方式比液態培養的生長期要長，但是優點在於好操作，並且與之相比感染率低一些。

#### 2. 簡介

靈芝的生長從孢子開始，一直到最後的子實體，需要的時間為 2-3 個月不等，甚至更長到 150 天，而我們實驗菌絲體的培養，是為了接種子實體，並且相對快速省資源的條件下得到產品，才有這次的實驗的想法，在接種後經過一定的天數來測定他們的生長速度，得到數據後進行估算。

##### 2-1. 靈芝培養

靈芝的培養從育種開始，將採集到的野生靈芝切片後進行培養，可以用培養皿

或是斜面培養基來培養，之後開始培養菌絲體，可以選用固態或液態的方式來培養，如果是子實體的部分，則會使用椴木以及太空包/瓶來培養。

椴木培養：

比較古老的培養方式，於段木之上開洞後將菌絲塞入，缺點是容易感染。

培養皿培養：

主要用來育種及使菌絲體活化。

液態培養：

發酵快也長得快，不像固態培養基需要加 agar，而且容易感染，接種失敗率高，操作也不易。

固態培養：

而我們是固態方式培養菌絲體，並且將來可以做為接種之用，與其他專題的不同之處是以麥子為基底，這樣有一個好處就是培養的時候可以清楚的觀察，而此種培養也可以拿來育種。

## 2-2. 之前的專題比較

靈芝菌絲體固態培養條件最佳化這個專題，比較過馬鈴薯培養基濃度之菌絲生長速率、地瓜和馬鈴薯及綠豆三種培養基、培養基過濾與否的生長速率跟不同氣溫之下靈芝生長速度，並取得了綠豆生長速度比較快、未過濾的培養基比較快、50g 下馬鈴薯培養基長比較快還有溫度較高時生長速率會相對較快之成果。

像氣舉式靈芝菌絲液態培養這個專題，他們做的是液態培養，生長濃度則是

原始濃度長得比較快。

我們的專題使用的是麥子作為基底，與之前相比的好處是製作的步驟比較簡單，培養起來容易一些，因為是固態培養所以感染率低於液態培養，麥子作為培養基也很好取得。

## 2-3. 研製背景與預期目標

我們的專題主要是以最缺少的資源得到靈芝最有效率的生長速度，使用的菌種是我們實驗室選殖的品種：*Ganoderma lingzhi* CHU1 進行每次的培養。基底材料有使用的分別是：活化菌種用的馬鈴薯跟用來培養的麥粒種。

我們的目標是藉由不同材料和比例，配出最有效率的生長方式，然後讓他可以接種並長成子實體，目前的預期是麥比水 1:1 生長速度是比較快的。

## 3. 專題的進行方式

### 3-1. 實驗目的

麥粒種是作為太空包、太空瓶子實體培養的菌種來源，為了能夠更快速生產能夠接種到瓶子的菌種，以便於大量生產靈芝，故有此次我們的實驗。

### 3-2. 實驗材料來源

靈芝菌種來源：實驗室選殖五年的品種，*Ganoderma lingzhi* CHU，而麥子則是大潤發購得的，品名為大麥香茶。

### 3-3. 接種過程

以麥子為基礎放進保鮮盒之中進行培養，然後依照不同的比例設計實驗。

以實驗一為例：

- 1) 準備培養皿、麥子、水
- 2) 將麥子依比例分開清洗。
- 3) 放在容器中浸泡 30 分鐘後將水倒掉。
- 4) 將其及要加在麥子內的水包上鋁箔紙後放入滅菌釜滅菌。
- 5) 滅完菌後取出放置在無菌操作台等其冷卻，大約 60 分鐘。
- 6) 將 40g 的麥子放到培養皿內，之後再將 20g 的水倒入
- 7) 將大概 0.45g 的菌絲放在正中央
- 8) 包上石蠟膜

### 3-4. 工作分配

羅翌璋負責實驗和實驗設計及報告修改的工作。林宜臻則負責協助實驗、撰寫 word、製作影片及彙整的工作。李昱廷則負責撰寫 PPT、影片編輯及上台報告的工作。

### 3-5 主要困難與解決之道

主要困難

由於靈芝與黴菌有相似的生存環境喜好，故在接種時很容易因為黴菌而感染，尤其培養的溫度越高黴菌長得越快，而且我們選用的容器蓋子為塑膠製無法一起滅菌，所以極容易感染。

麥子進行滅菌的時候水分可能會蒸發至至整個滅菌釜的環境中，導致每個實驗的靈芝水分可能不相同。

解決之道

將保鮮盒換成培養皿之後，可以解決塑膠無法滅菌的問題以及實驗時厚度的問題。

在滅菌時用一個小瓶子裝水之後進行滅菌，在無菌操作台操作時再進行加水。

### 3-6 實驗資料

#### 實驗一

#### 麥水比測試-1

使用了新的方式進行實驗

以下圖片都只取一盤

麥水 1 : 1 Day3 麥水 2 : 1 Day3



麥水 1 : 1 Day5 麥水 2 : 1 Day5



天數	Day3		Day5	
比例				
1 : 1	4cm	5cm	5cm	6cm
2 : 1	5.5cm	7cm	9cm	10cm

#### 實驗二

#### 溫度測試

測試兩種溫度分別是 28 度及 33 度

28 度 : 33 度 :



溫度	Day8	
	天數	
28 度	12cm	12cm
33 度	9.5cm	9.5cm

### 實驗三

#### 糖分實驗

添加葡萄糖或蔗糖並觀察其結果

添加 1M 葡萄糖 Day5



對照組 Day5



添加 1M 蔗糖 Day5



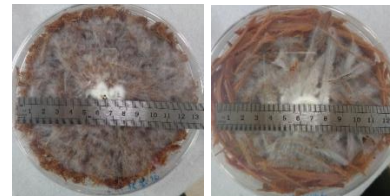
加糖	Day5		
	天數		
1M 葡萄糖	8cm	8.5cm	8.5cm
對照組	8.5cm		
1M 蔗糖	9cm	9.5cm	8cm

### 實驗四

#### 更改底材

使用椰子纖維 Day5

短長



對照 Day5



底材	Day5	
	天數	
短纖維	11cm	12cm
對照組	10cm	
長纖維	11cm	11.5cm

### 實驗五

#### 添加金屬離子

對照組與實驗五的相同

1) Mg

0.1M 0.5M 1M



2) Ca

0.1M 0.5M 1M



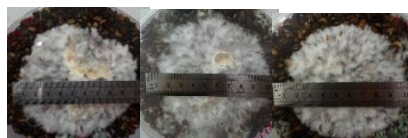
3) Mg&Ca

0.1M 0.5M 1M



#### 4) Mg&K

0.1M      0.5M      1M



#### 5) Mg&K&Ca

0.1M      0.5M      1M



單位	0.1M	0.5M	1M
金屬離子			
對照組	10cm		
Mg	11cm	10cm	9.5cm
Ca	12cm	11cm	11cm
Mg+Ca	11cm	11cm	10.5cm
Mg+K	9.5cm	9cm	9cm
Mg+K+Ca	11cm	10cm	9cm

### 4. 主要成果

目前在我們的實驗成果中看出來是在溼度部分是 2:1 會比較好些，在溫度部分 28 度比 33 度好，可能是高溫也會令靈芝長得不快，加了糖之後則沒有顯著變化，只有部分添加蔗糖的實驗盤長得比對照組快，加葡萄糖則是跟對照盤差不多，換成椰子纖維之後長得比對照組快一些，由其是短的纖維，然後加入金屬離子之後發現，若是加的單位越多，則生長速率會越不理想，唯一長得比較快速的是加了 Ca 的實驗組。

### 5. 評估與展望

原本的預期是 1:1 的比例之下靈芝會具有比較快的生長速度，進行實驗 1 之後發現，麥多於水的情況之下會長比較快，然而在測試溫度的時候感染比較嚴重的在 28 度，可能與黴菌也喜歡在這溫度生長有關，改了底材之後能在短的椰子纖維長的快些，只是菌絲看起來較為稀疏，之後加了的金屬離子，若是只有加單一金屬離子 1 單位是長得比較快速，加得越多，速度越慢。

使用麥粒種可以省去製作培養基的繁複步驟，而且做為直接進行接種的培養方式。

### 6. 結語

從三個變因下手:溫度、濕度、麥量，我們可以得知溫度和水量對靈芝生長有頗大的影響力，而麥:水 2:1 是經過測試之後長得比較快速的比列，雖然加了糖但是有幾個效果沒有出來，並且 28 度長比較快，只是需要注意感染的問題，特別新增了加入金屬離子的實驗，觀察後發現了很有趣的現象，加入 Ca 會對靈芝的生張速度能有所幫助。

### 7. 銘謝

感謝劉志俊主任一直在幫助我們瞭解更多靈芝相關資訊，也一直在我們不懂的時候教導我們，以及實驗室學長的指導與這專題進行中時幫助過我們的人。

### 8. 參考文獻

- [1] 戴玉成, 曹云, 周丽伟, & 吴声华. (2013). 中国灵芝学名之管见. 菌物学报, 32(6), 947-952.