

中華大學生物資訊學系系統開發專題報告

專題中文名稱：靈芝菌絲體固態培養條件最佳化

專題英文名稱:A study of the optimized condition for the cultivation of
Ganoderma lingzhi

專題組員：B10220016 盧憶芬、B10220021 張嘉珉

專題編號：PROJ2016-BIOINFO-102012

指導老師：劉志俊老師

1. 摘要

根據衛福部所公布的 103 年國內十大死因，排名第一為惡性腫瘤。且這已經是惡性腫瘤連續第三十三年排名第一。雖然近年來隨著醫療的進步，生活水準大幅提升，但對抗惡性腫瘤依然是目前相當重要的議題，而靈芝近年來被研究出除了能提高免疫力外，還有抗癌的功效。

所以我們選擇研究靈芝菌絲體固態培養基，藉由改變培養基介質材料、改變培養基濃度，比較不同品種靈芝的生長速率，找出最佳條件更有效率的去栽培靈芝，提高生長速率與品質，將有更多靈芝樣本可進行研究，進而利用靈芝功用。

2. 簡介

靈芝屬(*Ganoderma*)於 1881 年由 Karsten 建立，之後 Patouillard 於 1889 年確立本屬的廣義概念，並將本屬分為兩個組，分別為靈芝組(*Section Ganoderma*)與假芝組(*Section Ganoderma*)。靈芝組中包括樹舌一類的種類。然後同年 Karsten 建立了樹舌屬(*Elfungia*)。然後又歷經各界學者多年努力，在 1973 年時靈芝科被分為靈芝屬(*Ganoderma*)、樹舌屬(*Elfungia*)和假芝屬(*Amauroderma*)，已記錄的靈芝屬約 60

種、假芝屬約 45 種與樹舌屬約 6 種，總約 111 種靈芝[1]。

靈芝(學名：*Ganoderma lingzhi*)又稱為芝草、仙草、瑞草、神芝，中國古代認為靈芝有長生不老、起死回生的功效，並將靈芝視為仙草。東漢末年的《神農本草經》中，將藥分為上、中、下三品，其中上品皆為「無毒。多服、久服不傷人。」，靈芝即被列為上品。在《神農本草經》中介紹靈芝為「養命以應天，無毒，多服久服不傷人，輕身益氣，不老延年。」，同時指出靈芝有「益心氣」、「人心生血」、「助心充脈」、「安神」、「益肺氣」、「益脾氣」、「補肝氣」、「益精氣」、「堅筋骨」、「利關節」、「治耳聾」等功效，並將靈芝分為六類，分別為：青芝、赤芝、黃芝、白芝、黑芝與紫芝[2]。

而在《本草綱目》中也有關於靈芝的記載，李時珍指出：「昔四酷采芝，群仙服食，則芝菌屬可食者，故移入菜部。」認為靈芝可多食用，並將靈芝移入菜部。《本草綱目》記載靈芝有「益心氣、入心充血、助心充脈、安神、益肺氣。補中、增智慧、好顏色、利關節、活血、堅筋骨、祛痰、健胃。」之療效，也將靈芝分為青芝、赤芝、黃芝、白芝、黑芝與紫芝六類(圖 1)[3]。

靈芝中有兩項主要的有效成分，

分別為靈芝多醣 (Ganoderma Polysaccharide) 與靈芝三萜 (Ganoderma triterpenoid)。靈芝多醣能提高身體免疫力，也能提高肝臟、骨髓、血液合成 DNA、RNA、蛋白質的能力。靈芝三萜也稱為靈芝酸，為靈芝中苦味的主要來源，具有解毒、毒殺腫瘤細胞等作用[4]。

分類	別名	氣味	毒性	藥效
赤芝	丹芝	苦平	無毒	胸中結、益心氣
紫芝	木芝	甘溫	無毒	耳聾，利關節、益精氣、堅筋骨，好顏色、療虛勞、治痔
黃芝	金芝	甘平	無毒	心腹五邪，益脾氣，安神
白芝	玉芝	辛平	無毒	咳逆上氣，益肺氣，通利口鼻，強志意，安魄
黑芝	玄芝	鹹平	無毒	瘰、利水道，益腎氣、通九竅，聰察
青芝	龍芝	酸平	無毒	明目、補肝氣、安精魂

圖 1 靈芝於《本草綱目》中的分類

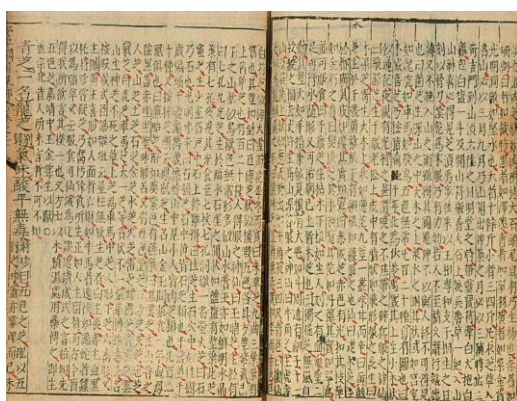
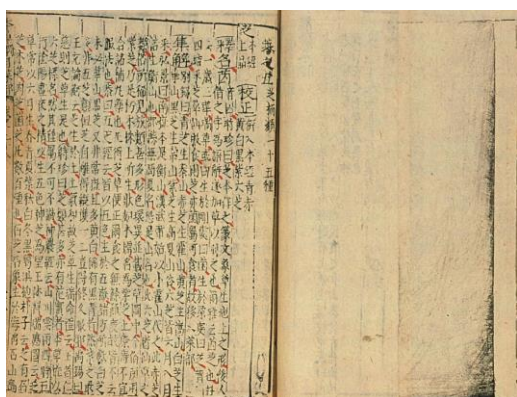


圖 2 靈芝於《本草綱目》的記載 (影印本第 18 冊 94 頁~96 頁)

3. 專題進行方式

透過使用不同條件，進而了解最適合靈芝菌絲的生長環境。

- 條件 1. 培養基材料與品種不同。
- 條件 2. 培養基過濾與否的影響。
- 條件 3. 培養基濃度不同。
- 條件 4. 培養時溫度不同的影響。

4. 實驗材料與方法

一、固態培養基製作

(一)、準備材料：

- (1) 馬鈴薯 50g
- (2) Agar 5g
- (3) 蔗糖 7.5g
- (4) RO 水 200ml

(二)、製作流程：

- (1). 將馬鈴薯與 100ml 的 RO 水(約)放入果汁機打成粥狀，如圖 1(a)所示。
- (2). 電磁爐先預熱 30 秒，設定 800 瓦，定時加熱 4 分鐘。將馬鈴薯與剩下的 RO 水(100ml)一同放入鍋內一邊煮一邊攪拌。煮滿 2 分鐘時，加入 7.5g 糖。繼續攪拌至定時結束，如圖 1(b)所示。
- (3). 取一個 1000c. c. 的血清瓶，先倒入一點煮好的馬鈴薯溶液，再倒入 5g 的 Agar，最後把剩下的馬鈴薯溶液全部倒入。鎖緊蓋子、用力搖晃，使溶液均勻混和，如圖 1(c)所示。
- (4). 混和好之後，即可用滅菌釜進行滅菌(溫度 121℃、壓力 1.2 kg/cm²、40 分鐘)。
- (5). 滅菌完成後，將血清瓶放入無菌操作台用紫外燈照射進行殺菌，等待 15 分鐘，殺菌完成就可以進行倒盤，如圖 1(d)所示。
- (6). 倒盤完畢，放置 2 天等待培養基凝固即算完成。



(a)

(b)



(c)

(d)

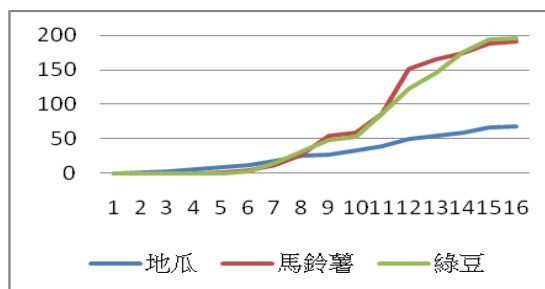
圖 3 靈芝固態培養基製作過程(a)馬鈴薯打成粥狀(b)烹煮馬鈴薯(c)將馬鈴薯倒入瓶中(d)倒盤前先用紫外燈照射。

二、實驗結果

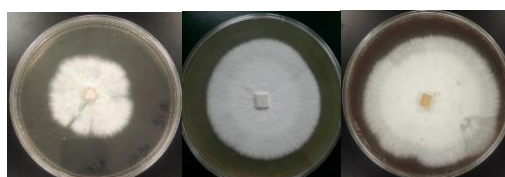
(一)、地瓜、馬鈴薯、綠豆三種作為培養基的比較：

天數	地瓜	馬鈴薯	綠豆
1	0	0	0
2	1.44	0	0
3	2.25	0	0
4	6.25	0	0
5	9	1.44	0
6	12.25	4	3.24
7	18	12.58	14.44
8	25.85	27.5	31.32
9	27.5	55.44	48.91
10	33	59.25	53.25
11	39	87.4	86.33
12	49.64	152.4	123.2
13	54	166.25	145.14
14	58.5	75.5	175.5
15	64.6	189	194.6
16	67.24	196	196

(單位：平方公分)



由上述實驗結果來看，以馬鈴薯跟綠豆為培養基的生長速率遠大於地瓜為培養基時的生長速率。雖然馬鈴薯跟綠豆的生長速率差不多，但是馬鈴薯培養基的靈芝菌絲較為密集，綠豆培養基的靈芝菌絲較為鬆散。



(a)

(b)

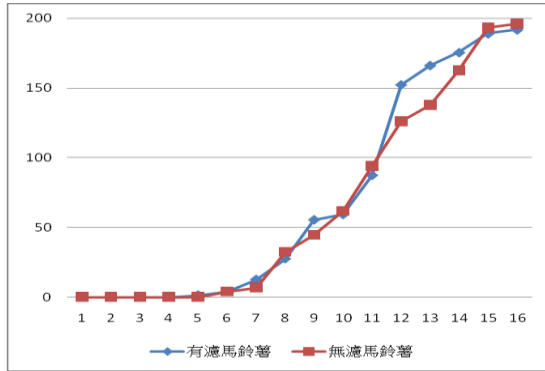
(c)

圖 4 生長觀察第十二天有明顯生長差距。(a)地瓜培養基(b)馬鈴薯培養基(c)綠豆培養基。

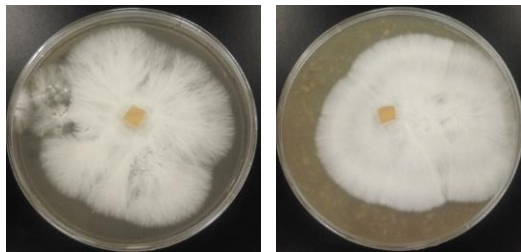
(二)、培養基過濾與不過濾之生長速率比較：

培養天數	有過濾	無過濾
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	1.44	0
6	4	4
7	12.58	6.76
8	27.5	32.4
9	55.44	44.46
10	59.25	61.6
11	87.4	93.96
12	152.4	126
13	166.25	137.76
14	175.5	162.5
15	189	193.2
16	191.8	196

(單位：平方公分)



由上述實驗結果來看，未過濾的馬鈴薯培養基的靈芝菌絲生長速度略快於經過過濾的馬鈴薯培養基。但就疏密程度而言，未過濾的馬鈴薯培養基菌絲較為密集。

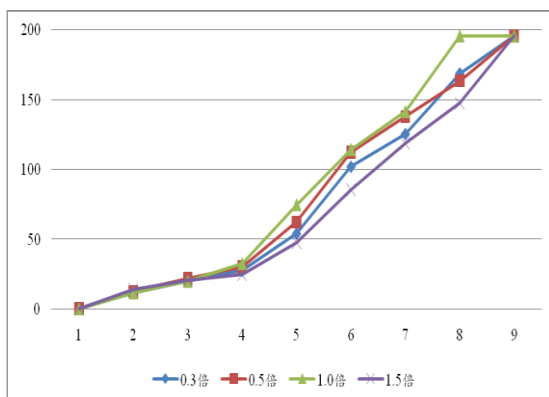


(a) (b)

圖 5 生長觀察第十二天時。(a)有濾馬鈴薯(b)無濾馬鈴薯。

(三)、馬鈴薯培養基濃度之菌絲生長速率比較：

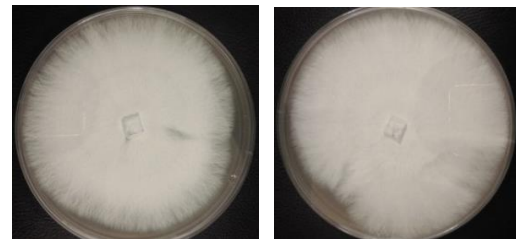
我們嘗試將馬鈴薯的量改為 0.3 倍(15g)、0.5 倍(25g)、1.5 倍(75g)與 2.0 倍(100g)，與原本的 1.0 倍(50g)來作比較；但 2.0 倍(100g)在製作時因濃度太高，過於濃稠而無法倒盤。



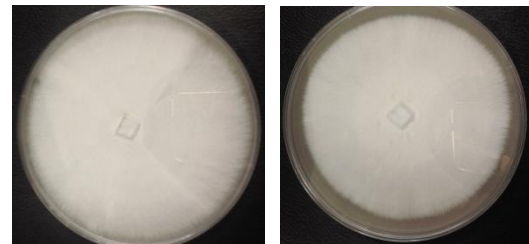
天數	0.3 倍	0.5 倍	1.0 倍	1.5 倍
1	0	0	0	0
2	11.55	12.54	11.55	14.04
3	19.8	21.6	19.78	20.7
4	27.56	30.24	32.48	24.48
5	54	62.4	74.8	47.6
6	102	112.35	114.48	85.56
7	125.43	138	141.6	118.8
8	169	163.75	196	147.62
9	196	196	196	196

(單位：平方公分)

由上述實驗結果來看，濃度為 1.0 倍的馬鈴薯培養基為最佳濃度，培養基菌絲成長速率最快，也最為密集。



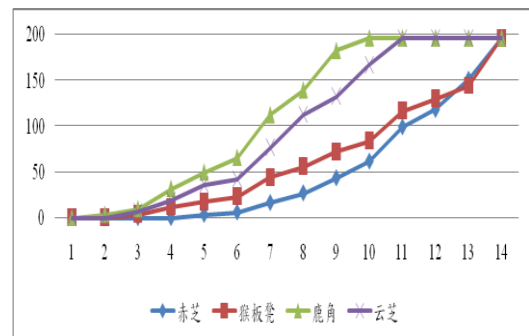
(a) (b)



(c) (d)

圖 6 生長觀察第八天時，各濃度生長情況。(a)0.3 倍(b)0.5 倍(c)1 倍(d)1.5 倍。

(四)、不同靈芝品種之菌絲生長速率比較：



天數	赤芝	猴板凳	鹿角	云芝
1	0	0	0	0
2	0	0	3.6	0
3	0	3.8	9.6	6.75
4	0	11.8	31.8	18.9
5	3.45	17.6	49.6	36
6	6	23	65.6	42.2
7	16.3	44.2	112.2	76.5
8	27	56.1	139.2	112.3
9	43.4	72	182.2	132.2
10	61.6	83.7	196	166.4
11	99	116.6	196	196
12	118	129.9	196	196
13	151	144	196	196
14	196	196	196	196

(單位：平方公分)

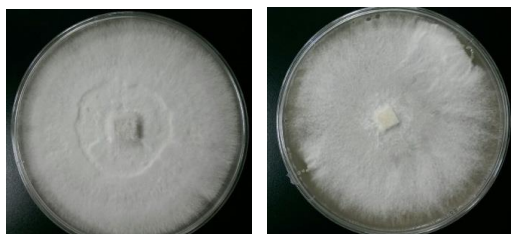
實驗中所使用的靈芝樣本，來源均自劉志俊老師收集與培養得來。

由上述實驗結果來看，同樣條件下，生長速率最快的靈芝品種為鹿角靈芝，其次是云芝，然後是赤芝，最後為猴板凳。



(a)

(b)



(c)

(d)

圖 7 生長觀察第十天時，鹿角靈芝已完全長滿培養皿。(a)赤芝(b)猴板凳(c)鹿角(d)云芝。

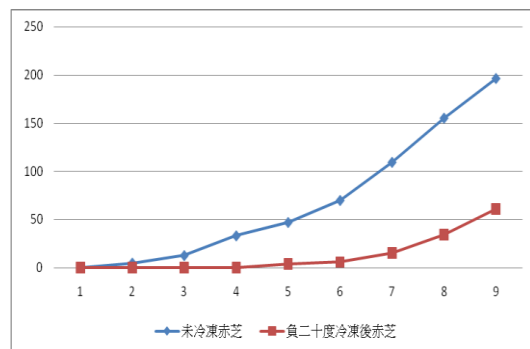
(五)、經冷凍後對靈芝菌絲生長

速率影響：

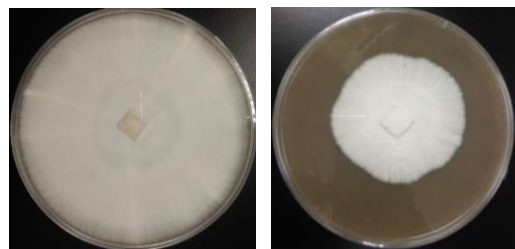
我們將一盤長滿菌絲的培養盤放入負二十度冰箱，冷凍一個禮拜後，再轉殖到新的培養盤上。

天數	未冷凍赤芝	負二十度冷凍後赤芝
1	0	0
2	4.83	0
3	12.58	0
4	33.06	0
5	46.92	3.78
6	69.7	5.72
7	109.2	15.2
8	154.94	34.22
9	196	60.8

(單位：平方公分)



由上述實驗結果來看，有冷凍過的赤芝生長速度明顯比常溫下的赤芝緩慢許多。且實驗過程中，由於赤芝經過冷凍，轉殖後會因退冰而產生許多水，導致容易發霉。



(a)

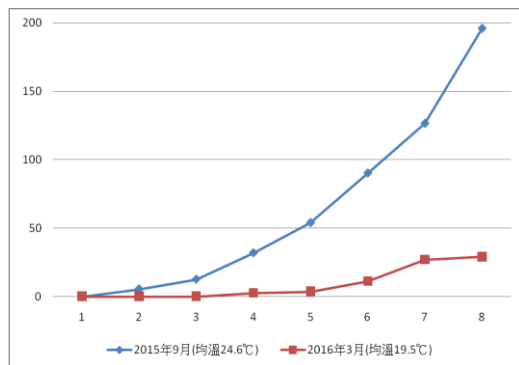
(b)

圖 8 生長觀察第九天，經冷凍與未冷凍的赤芝生長速率差距相當明顯。(a)未冷凍赤芝(b)負二十度冷凍後赤芝。

(六)、不同氣溫下靈芝菌絲生長

速率比較：

天數	2015年9月 (均溫 24.6 °C)	2016年3月 (均溫 19.5 °C)
1	0	0
2	5.52	0
3	12.6	0
4	31.92	2.56
5	54	3.61
6	90.24	11.2
7	126.56	27
8	196	29.15



根據上述實驗結果來看，赤芝菌絲在溫度較高時生長速率會相對較快。



(a) (b)

圖 9 生長觀察第八天，在較溫暖的溫度下，赤芝菌絲明顯生長快速。(a)九月時的赤芝(b)三月時的赤芝。

5. 評估與展望

靈芝現在在醫療方面有著重要研究價值，如能更快的培養出靈芝以提供實驗，相信能為全人類帶人更大的福祉，且若台灣成為靈芝主要生產地，將有更大的經濟價值。

6. 結語

經由各項實驗測試後，得出靈芝菌絲培養基最好的成分配方與培養環境如下：

- (1.) 材料主成分以馬鈴薯最佳。
- (2.) 製作培養基時，經烹煮的馬鈴薯不需要過濾。
- (3.) 馬鈴薯與水的比例，為 1:4 最佳。
- (4.) 不同品種的靈芝生長速率不同，生長速率最快為鹿角靈芝。
- (5.) 冷凍過的赤芝生長速度較慢，且水分多容易發霉。
- (6.) 接上靈芝菌絲之後，在溫暖的溫度下培養為佳。

7. 銘謝

感謝劉志俊老師的指導，甚至在暑假期間也給予幫助與建議，也找來有實驗經驗的學長進行教學，讓我們學習到了許多知識與實驗技巧。

8. 參考文獻

- [1] 趙繼鼎, & 張小青. (2000). *中國真菌志*. 第十八卷. 靈芝科.
- [2] 吳普, 孫星衍, & 孫馮翼. (1963). *神農本草經*. 人民衛生出版社.
- [3] 李時珍. (1933). *本草綱目* (第十八冊. 二十八卷).
- [4] 孫濤, 王厚龍, & 孫鳳發. (2007). 靈芝的藥用價值與栽培技術. *人參研究*, 19(2), 23-24.