

目 錄

一、中文摘要.....	1
二、英文摘要.....	1
三、研究團隊說明.....	2
四、計畫目的.....	2
五、重要工作項目及實施方法.....	3
六、結果與討論.....	4
七、結論.....	7
八、參考文獻.....	8
附件：	
一、期中簡報審查意見回覆表.....	10
二、期末簡報審查意見回覆表.....	12
三、圖片.....	14

一、中文摘要

牛樟芝 (*Antrodia cinnamomea*) 為台灣特有的菌種，僅生長於台灣特有種牛樟樹 (*Cinnamomum micranthum*) 與其段木上，數量稀少，市售價高且衍生牛樟樹遭非法盜伐，因此，如何運用牛樟樹以外之造林樹種木材培育牛樟孢子實體，乃是市場業者及林政公務目前面對的問題。本中創新研發造林樹種等非牛樟樹材如杉科、樟科等接種培育牛樟芝菌絲體技術，包括從牛樟芝單孢分離的不同色系子代中，進行配對、篩選出遺傳變異菌株，如紅色、黃色及白色牛樟芝菌株。並進行造林樹種段木處理，以確保牛樟芝菌絲體長期定殖在非牛樟樹材之不同基質段木上，其中福杉 (廣葉杉 *Cunninghamia lanceolata*) 與香樟 (*Cinnamomum camphora*) 皆已有牛樟芝原基體 (Primordia) 與子實體 (Sporocarps) 發生，福杉並已訂定擬訂牛樟芝菌種培養技術標準作業流程。至於牛樟樹、福杉樹及香樟樹段木長出之牛樟孢子實體，經 HPLC 比較三萜類差異結果，顯示 3 種不同段木所獲得之牛樟孢子實體成分在滯留時間 20 分鐘至 100 分鐘期間出現的三萜類成分不完全相同，至於牛樟孢子實體三萜類成分總量，以香樟段木栽培所得子實體三萜類含量最高，為牛樟樹段木栽培所得子實體三萜類含量之 1.08 倍，福杉段木栽培所得子實體三萜類含量最低，僅為牛樟樹段木栽培所得子實體三萜類含量之 0.35 倍。因此考量產業利用本技術之實用性，未來尚須進行安全與機能性評估。

二、英文摘要

The wood of *Cinnamomum micranthum*, as a kind of *Antrodia cinnamomea* resource, is in a situation of being serious fallen unlawfully, so how to use the wood besides *Cinnamomum micranthum* cultivating sporocarps of *Antrodia cinnamomea* is the problem that official forestry institution and owners of market business are facing at present. By means of the methods developed by ESRI, the genetic variation of strain with red, yellow and white color individually can get by the differential media. Besides, the substitute wood of the families Lauraceae and Taxodiaceae will cultivate the mycelia of *Antrodia cinnamomea*. Then, to concoct the inducer of primordia shorten the period of sporocarps formation. Finally, to provide the foundation for acceptable products by analyzing the contents and components of triterpenoids from the fruiting bodies of different wood. In order to find out the best condition, this project study on the triterpenoid and polysaccharide production from changing the different physical,s and chemical,s factor (include: nutrition source, formulation, extraction and fermentation method) in *Antrodia cinnamomea* wood culture. The results were further analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The HPLC patterns of extracts from fruiting bodies growing on the wood of stout camphor tree, camphor tree and fir

wood were different at the retention times between 20 and 100 minutes. Extracts from the sporocarps on the fir wood showed little or no peaks at retention times between 20-100 minutes indicating that those only have the little special triterpenoids (0.35-fold than the stout camphor tree). The amount of basidiomatal special triterpenoids in the extracts of the camphor tree is 1.08-fold than the stout camphor tree. Therefore, to consider the practical industrial use of the technology in the future, the security and the functional assessment will still have to carry on.

三、研究團隊說明

執行單位：農委會特有生物研究保育中心經營管理組

計畫主持人：陳建名研究員，電子信箱：chienmin@tesri.gov.tw。

研究人員：黃秀雯副研究員，電子信箱：hsiuwen@tesri.gov.tw。

團隊以往研究成果則有：（一）建立牛樟芝子實體三萜類 HPLC 分析技術。（二）開發牛樟芝菌種單孢分離配對技術，可得到優質牛樟芝品系。（三）開發牛樟芝液態與固態組織培養菌絲體技術，可為牛樟芝菌絲體濃縮液與膠囊的商品化量產原物料。（四）開發萃取技術，可生產具原色、原味之牛樟芝萃取液，三萜類成分含量為傳統水煮液含量的 4 至 6 倍，可大幅提高牛樟芝子實體利用率並降低成本。（五）開發牛樟芝結合桑黃、蟲草成分衍生產品之添加技術，可提昇商品價值。（六）開發牛樟段木接種技術。其中「牛樟芝段木培養方法及其所得子實體」業由本中心申請專利在案；「牛樟芝子實體成分萃取物」則非專屬授權 1 家業者，授權金 600 萬元並有第 1、2 年衍生利益金 212,580 元收入。

四、計畫目的

牛樟芝 (*Antrodia cinnamomea* (Zang and Su,1990; Chang and Chou,1995)) 為台灣特有的菌種，僅生長於台灣特有種牛樟樹的中空樹洞與其段木上，數量極少。國內部份民眾常將牛樟芝視為治療癌症如肝癌、肺癌等之靈藥，而產學界多數以液體發酵培育菌絲體為主，但一直無法令其合成有效成分之三萜類化合物，因此，市面菌絲體濃縮液相關產品雖多達 40 餘家，惟民眾仍喜私下購買牛樟芝子實體以水煎煮後服用，導致子實體市售價高達每台斤 9 萬元以上，且假貨充斥購買不易，時有民眾上當受騙情事發生，因而衍生牛樟樹遭非法盜伐及民眾入山竊取森林副產物等林政問題。而牛樟芝有效成分之三萜類化合物不溶於水，以水煎煮所得之三萜類含量極低，子實體價昂而利用率偏低為牛樟芝相關產業另一問題。台灣民眾利用牛樟芝之時間長達 20 年以上，治癒痼疾之事例亦時有傳聞。依國外長期進行從天然物開發新藥的成功經驗顯示，由真菌次級

代謝物篩檢得藥理活性成分的機率遠高於從高等植物為篩檢源。在結構上，變化多端的真菌次級代謝物，亦意謂著可能有較廣泛且值得開發的生物醫藥的潛力。因此，為克服牛樟樹材日益短缺的問題，因應國內民俗中醫消費需要及醫藥界開發台灣特有的牛樟芝生物醫藥潛力需求，減少國有林牛樟樹遭非法盜伐及民眾入山竊取森林副產物等林政問題，亟需研發以國有林地造林樹種如樟科、杉科、及殼斗科等非牛樟樹材之段木或疏伐木，培育牛樟芝菌絲體及子實體出菇誘導技術乃當務之急。

五、重要工作項目及實施方法

- (一) 段木接種用牛樟芝菌種供應：牛樟芝菌絲體發酵培養經長時間繼代培養後，表現出肉眼可見的不正常現象如生長速度減緩、不均一，出現菌落長相不同及特有之氣味變淡等菌種退化情形，確是菌種內在的遺傳異質性、細胞退化或生理代謝變化的必然結果，因此必須進行以下因應措施與試驗：(1) 定期採種與供應菌種：利用本中心開發之選擇性培養基，從牛樟樹段木分離牛樟芝菌種，作為菌種純化之用。(2) 菌種純化：基本程序為大量繼代培養→菌落外觀選擇與配對→必要時進行成分 (HPLC) 檢驗→不同特性之純化菌種。(3) 建立菌種製作技術：測試液態菌種、固態菌種、培養基菌種、材質菌種等量產可行性，開發可供未來業者大量接種之專用菌種製造技術。
- (二) 改良段木牛樟芝菌絲體培養技術：將已接種至杉科、樟科及殼斗科等非牛樟樹材不同基質段木，改變培養條件如溫度、濕度、通氣 光照、pH 值等，培養 60—90 天後，觀察牛樟芝菌絲體生長情形，再決定何種材質段木可進一步進行子實體出菇誘導處理，以開發適合牛樟芝菌絲體非牛樟樹材段木大量生長與定殖之菌絲體培養技術。
- (三) 提高牛樟芝化學圖譜成分與促進原基體形成技術：分離並萃取台灣原生植物之天然化物，配合本中心開發之牛樟芝菌種專一性培養基，篩選添加後得以轉化牛樟芝菌絲體為原基體 (Primordia) 之物質，以促進造林樹種採伐木或疏伐木等非牛樟樹段木上形成子實體。
- (四) 開發牛樟芝在非牛樟樹材段木子實體出菇誘導技術：牛樟芝菌絲體在非牛樟樹材段木定殖後，施予改變生長環境如溫濕度差，進行材質處理如堆放、切刻、磨光、剝皮、剖半、挖連接洞、凹槽、增焰、熱淋、直流高壓電、淹水、碰撞、刮除等物理方式處理，觀察並記錄牛樟芝菌絲體及子實體生成情形，估算子實體數量與處理成本。
- (五) 觀察牛樟芝菌絲體培養不同階段之細胞核數目變化：在自然的環境下，菌絲易於生存且生長迅速，形成子實體所需的時間較短，適合於商業栽培生產。本計畫以 Giemsa—HCl 或螢光染色鏡檢牛樟芝原基體 (Primordia) 形成前不

同階段之細胞核數目變化，冀得到牛樟芝子實體出菇時之顯微具體徵狀。

- (六) 以 HPLC 比較牛樟樹段木與其他不同基質段木產生之子實體三萜類差異：以牛樟芝子實體形成之特定三萜類如 Zhankuic acids A, B, C 或 Antcin K 等為標的物，經 HPLC 儀器分析牛樟樹材段木與非牛樟樹材段木子實體同一滯留時間之標的物波峰及面積，設定固定面積代表基本單位，換算本計畫所得之牛樟芝子實體三萜類成分總量。

六、結果與討論

(一) 牛樟芝菌種供應（分離、純化與製作）

- 1、以刀片沿著段木上牛樟芝子實體表面，橫切菌孔的方式薄切下約 0.5–1.0 × 0.2–1.0 公分〈長×寬〉大小之子實體，置於含鑑別培養基之培養皿中央，在 20°C–25°C 中培養 10–20 天即可見中央子實體周遭有橘紅色菌絲長出，而外圍是由子實體中擔孢子發散後落在鑑別培養基上所形成的不同呈色之橘紅色單孢菌落，其間亦會有白色系之單孢菌落（圖 1），鑑別培養基之配方屬本技術營業秘密（know how）範圍。

2、中繼增殖菌種製作與篩選

將純化牛樟芝洋菜菌種置於經滅菌處理之中繼增殖培養基中，室溫下培養 30 天後即可當增殖菌種使用。中繼增殖培養基之配方屬本技術營業秘密（know how）範圍，其中農產品加工剩餘物為蔗渣，加入多種營養成分為麥芽糖、有機酸及蛋白質，並調整為弱酸性。使用增殖菌種目的是去除木黴菌（*Trichoderma* spp），因為木黴菌在中繼增殖培養基極易產孢顯示出深綠色菌落，即可由眼視而去除污染木黴菌培養瓶（圖 2），以達到菌種純化篩選之目的。

3、大量液態菌種製作

將純化牛樟芝洋菜菌種或中繼增殖菌種置於經滅菌處理之液態培養基中，室溫下靜置或振盪培養 7 天後，即可當液態菌種大量製作之接種用菌種（圖 3），大量液態菌種製作之配方屬本技術營業秘密（know how）範圍。液態菌種具複製快、產程短、使用方便、可自動化量產及接種菌量絕對優勢等優點，惟一般之液態菌種有細菌污染率高且接種於固體表面時易死亡等缺點。

4、菌落外觀不同特性之純化牛樟芝菌種接種

將菌落外觀不同特性之純化牛樟芝菌種，如橘紅色、白色及黃色系單孢菌落選擇與配對而得到不同色系之純化牛樟芝菌種，再接種於牛樟樹段木上並使其長出不同色系之子實體（圖 4、圖 5、圖 6），此時之牛樟樹段

木上子實體可當作菌種保存。另外，分別進行三萜類含量 HPLC 檢驗（圖 7、圖 8、圖 9）。

（二）造林樹種段木牛樟芝菌絲體培養技術改良

1、半固半液態培養技術

鑑於造林樹種材質含水量不一，在不更換容器以避免雜菌污染，初期能提供低濃度營養並添加天然可抑制雜菌之物質，讓牛樟芝菌絲體能快速生長佔據不同基質段木表面，後期則添加高濃度營養以刺激牛樟芝菌絲體本身產生多量三萜類，抑制雜菌生長而長期定殖在造林樹種之段木基質內，乃改良固態發酵技術為半固半液態培養技術，利用農產品加工剩餘物，加入多種營養成分，以適合牛樟芝菌絲體在造林樹種段木大量生長與定殖。其中接種造林樹種段木如柳杉、台灣杉、福杉、香樟及中國大陸產江西樟等非牛樟樹材，分別培養 30—60 天後長出紅色菌絲體，成功率 100%（圖 10），惟後期除福杉、香樟及江西樟外，餘如柳杉、台灣杉之菌絲體大都消失且無子實體發生。本計畫執行再將福杉段木塊大量培養菌絲體約 300 塊以上。

2、福杉與香樟段木處理與菌絲體培養技術改良

（1）段木不可浸水並將表面以機械刨光處理。

（2）將表面刨光之段木置於密閉空間或烘箱內，密閉空間或烘箱壁上預留送風口與出風口，送風口以送風量為 20 公升／分鐘以上之電熱器送入經加熱至 80°C—120°C 之熱空氣，熱空氣烘烤循環經過段木後由出風口逸出，同批段木經處理 1—2 小時後，段木表面呈乾燥狀。

（3）如同第（2）項處理後，取出段木再經 100°C 以上高溫蒸汽處理 1—2 小時，冷卻後取出段木浸泡於經高溫滅菌處理之常溫水中 30 分鐘後，取出段木瀝乾後立即抹上接牛樟芝液態菌種或抹上鋸木屑菌種，並以塑膠袋套住段木後置於室內常溫培養，2 個月後打開塑膠袋並置於室內常溫培養至子實體出現。

（三）開發牛樟芝在造林樹種段木出菇誘導技術

牛樟芝菌絲體在福杉與香樟段木上定殖 60—90 天後，施予改變生長環境如溫、濕度差，進行材質處理如堆放、切刻、磨光、剝皮、剖半、挖連接洞、凹槽、增焰、熱淋、直流高壓電、淹水、碰撞、刮除等物理方式處理，觀察並記錄牛樟芝菌絲體及子實體生成情形，其中與子實體發生有關者如溫、濕度差、堆放、磨光等 3 種處理。前 2 項則以儲運箱施作方式一併處理，至於磨光處理則需視段木表面與菌絲體生長情形而定，若有軟腐、臭味發生，則需進行剔除並磨光，以促進出菇。另輔以化學藥劑如 0.1M 硫酸、0.1M 鹽酸、

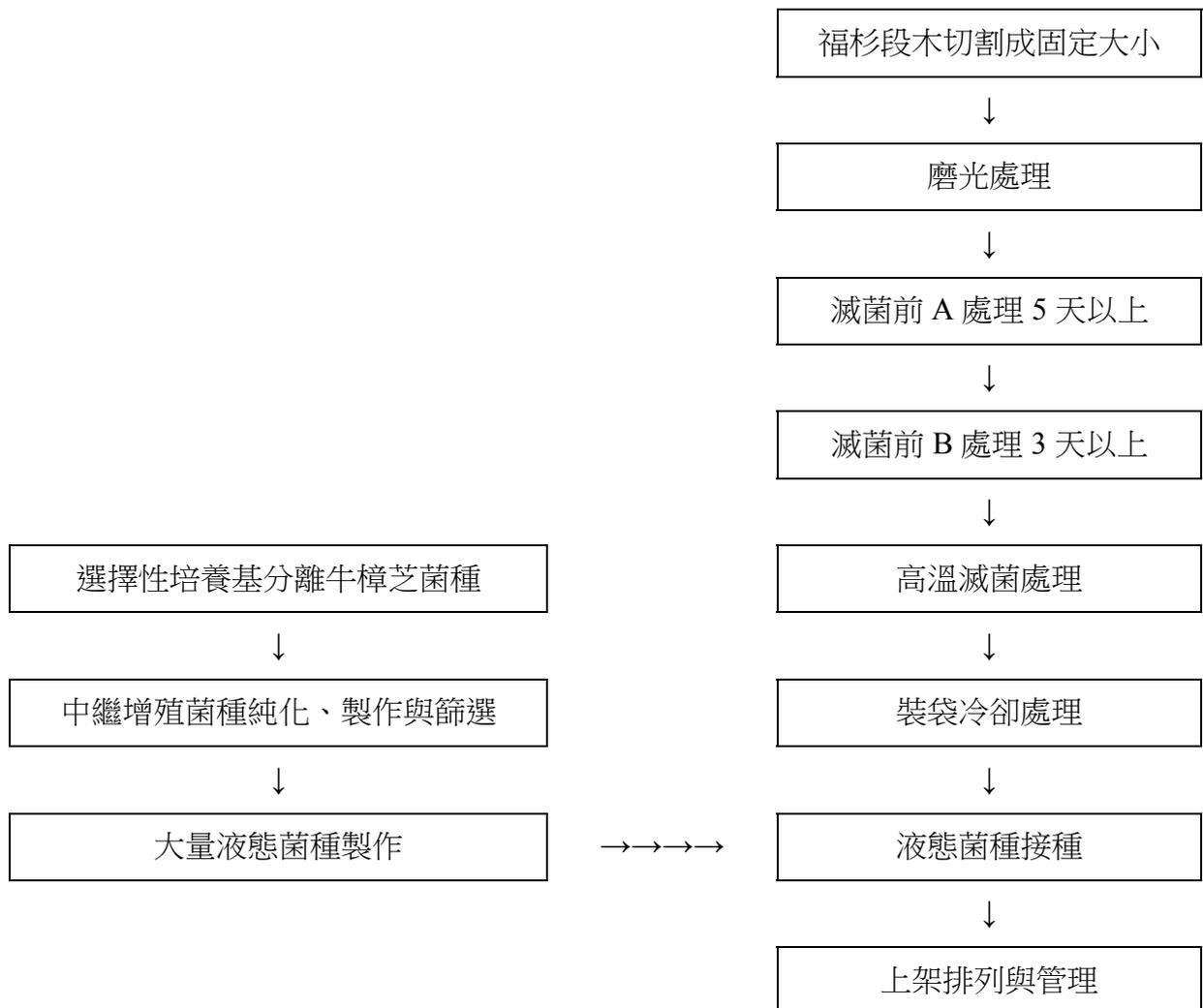
0.1M 硝酸、0.1M 氫氧化鈉、0.1M 氫氧化鈣等多種溶液進行處理（圖 11），可使牛樟芝原基體（Primordia）在培養 90 天後即發生（圖 12、圖 13）。

（四）福杉與香樟段木所產生之子實體數量與原物料成本估算

估算生產每兩（37.5 公克）牛樟芝子實體之段木原物料成本，在牛樟樹段木約 5000 元，香樟約 500 元，福杉約 50 元（圖 14）。至於同時接種、不同樹種段木所產生之牛樟芝子實體三萜類成分總量，以香樟段木栽培所得子實體三萜類含量最高，為牛樟樹段木栽培所得子實體三萜類含量之 1.08 倍，福杉段木栽培所得子實體三萜類含量最低，僅為牛樟樹段木栽培所得子實體三萜類含量之 0.35 倍（圖 15）。

（五）擬訂福杉牛樟芝菌種培養技術標準作業流程

經綜合其生長情形、原物料成本且未來可供業者自動化大量生產之方法，乃選定福杉並擬訂作業流程如下：



福杉牛樟芝菌種培養技術標準作業流程

- (六) 以 HPLC 比較牛樟樹段木與其他段木不同時期接種產生之子實體三萜類差異進行野生牛樟芝、層牛樟芝 (圖 16、17)、白色牛樟芝、黃色系牛樟芝、香樟木牛樟芝、福杉木牛樟芝、江西樟牛樟芝等 7 種不同時期接種產生之子實體三萜類成分總量換算結果，野生牛樟芝含量最高，其次為層牛樟芝，含量最少的是黃色系牛樟芝與福杉木牛樟芝 (圖 18)。若分析 HPLC 檢測成分種類，最多的仍是野生牛樟芝與層牛樟芝，而最少的是黃色系牛樟芝 (圖 19)。
- (七) 以 HPLC 比較牛樟樹、福杉樹及香樟樹段木成分差異將牛樟樹、福杉樹及香樟樹段木經酒精萃取成分，再以 HPLC 比較相對成分量結果，以牛樟樹含量最高，香樟樹最低 (圖 20)。若以 HPLC 比較成分種類，則以香樟樹最多，牛樟樹略少於香樟樹，福杉樹最少 (圖 21)。而福杉段木經本技術作業流程後以 HPLC 比較成分種類確有轉變與稍為減少之現象 (圖 22)。

七、結論

本計畫創新研發牛樟芝大量液態菌種製作與造林樹種 (福杉、香樟) 段木出菇誘導技術，並以 HPLC 比較不同基質段木子實體三萜類差異，未來若能通過安全性與機能性檢測，本技術可進一步配合自動化作業，使牛樟芝量產穩定化，價格合理化，應用科學化，可為業者純化及合成具醫療功效之原物料來源。

八、參考文獻

- 楊書威。 1991。 中藥樟菇活性成分之研究。 臺灣大學藥學研究所碩士論文。
- 高曉蕨。 1992。 臺灣靈芝屬新種樟芝之三萜類成份研究。 臺北醫學院天然物醫學研究所碩士論文。
- 程一華。 1994。 樟芝之成分研究。 國立師範大學化學研究碩士論文。
- 吳德鵬。 1995。 樟芝微量成份的研究。 國立臺灣師範大學化學研究所碩士論文。
- 簡秋源、姜宏哲、陳淑貞。 1997。 牛樟菇培養性狀及其三萜類成分分析之研究。 牛樟生物學及育林技術研討會論文集。 林業叢刊第72號:133-137。
- 黃惟敏。 1999。 樟芝微量成份的研究。 靜宜大學應用化學研究所的碩士論文。
- 許勝傑、陳清農、陳勁初。 2000。 樟芝宿主專一性之探討。 臺灣農業化學與食品科學38 (6) :533-539。
- 黃鈴娟。 2000。 樟芝和姬松茸之組成分析及構形鑑定。 國立中興大學食品科學研究所碩士論文。
- 陳勁初、林文鑫、陳清農、許勝傑、黃仕政、陳炎鍊。 2001。 臺灣特有真菌—樟芝菌絲體之開發。 中華真菌學會會刊16 (1, 2) :7-22。
- 陳啟楨、蘇慶華、藍明煌。 2001。 樟芝固體栽培及其生物活性之研究。 中華真菌學會會刊16 (1, 2) :65-72。
- Chang, T.T. and W.N. Chou. 1995. *Antrodia cinnamomea* sp. Nov, on *Cinnamomum kanehirai* in Taiwan. *Mycol. Res.* 99: 756-758.
- Chen C.H., Yang S.W., Shen Y.C. 1995. New steroid acids from *Antrodia cinnamomea*, a fungal parasite of *Cinnamomum micranthum*. *J. Nat. Prod.* 58: 1655-1661.
- Cherng, I.H. and H.C. Chiang. 1995. Three new triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*. *J. Natural Products* 58 (3) :365-371.
- Cherng, I. H., D. P. Wu, and H.C. Chiang. 1996. Triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*. *Phytochemistry* 41 (1) : 263-267.
- Chiang, H.C., D.P. Wu, I.H. Cherng, and C.H. Ueng. 1995. A sesquiterpene lactone, phenyl and biphenyl compounds from *Antrodia cinnamomea*. *Phytochemistry* 39: 613-616.
- Su, C.H., M.N. Lai, and M.H. Chan. 1993. Hepato-protective triterpenoids from *Ganoderma tsugae* Murrill. Pp. 275-283. In: *Mushroom biology and mushroom products*. Eds., S.T. Chang, J.A. Buswell, and S.W. Chiu.
- Tang, S.W., Y.C. Shen, and C.H. Chen. 1996. Steroids and triterpenoids of *Antrodia cinnamomea* a fungus parasitic on *Cinnamomum micranthum*. *Phytochemistry* 41 (5) : 1389-1392.
- Wu D. P., Chiang H.C. 1995. Constituents of *Antrodia cinnamomea*. *J. Chin. Soc.* 42: 797-800.
- Wu, S.H., L. Ryvardeen, and T.T. Chang. 1997. *Antrodia camphorata* (“niu-chang-chih”), new combination of a medicinal fungus in Taiwan. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 38: 273-275.

- Yang S.W., Shen Y.C., Chen C.H. 1996. Steroids and triterpenoids of *Antrodia cinnamomea* – a fungus parasitic on *Cinnamomum micranthum*. *Phytochemistry* 41: 1389-1392.
- Zang, M. and C.H. Su. 1990. *Ganoderma comphoratum*, a new taxon in genus *Ganoderma* from Taiwan, China. *Acta Bot. Yunnanica* 12: 395.

附件

一、期中簡報審查意見回覆表

審查意見	意見回覆
(一) 符何期中審查標準。	遵照辦理。
(二) 本計畫非常實用價值，造林樹種中是否香樟及福杉已確定可出菇，負面功能亦應敘明。	同時接種、不同樹種段木所產生之牛樟芝子實體三萜類成分總量，以香樟段木栽培所得子實體三萜類含量最高，為牛樟樹段木栽培所得子實體三萜類含量之1.08倍，福杉段木栽培所得子實體三萜類含量最低，僅為牛樟樹段木栽培所得子實體三萜類含量之0.35倍。其中香樟段木所得子實體經水煮後服用有頭暈、上顎牙床、後頸部麻痺現象，至於福杉段木栽培所得子實體則無此現象。
(三) 材料與方法中，(二) 提及改變培養條件如溫度...pH值等，以改良段木牛樟芝菌絲體培養技術。(四) 改變生長環境如溫濕度差，進行材質處理如堆放、切刻...刮除等，以開發牛樟芝在非牛樟樹材段木子實體出菇誘導技術。本研究迄目前止是否有此等設定條件之較詳細試驗資料，如有應在報告中提出。	牛樟芝菌絲體在福杉與香樟段木上定殖60—90天後，施予改變生長環境如溫、濕度差，進行材質處理如堆放、切刻、磨光、剝皮、剖半、挖連接洞、凹槽、增焰、熱淋、直流高壓電、淹水、碰撞、刮除等物理方式處理，觀察並記錄牛樟芝菌絲體及子實體生成情形，其中與子實體發生有關者如溫、濕度差、堆放、磨光等3種處理。前2項則以儲運箱施作方式一併處理，至於磨光處理則需視段木表面與菌絲體生長情形而定，若有軟腐、臭味發生，則需進行剔除磨光處理，以促進出菇。
(四) 於非牛樟樹材不同基質段木之樟芝菌絲體培養中，所採用段木是否以較接近牛樟之樟科樹種為佳。又所選擇非牛樟段木之抽出成分與pH值是否會影響牛樟芝的生長？	於非牛樟樹材不同基質段木之樟芝菌絲體培養中，所採用段木確以較接近牛樟之樟科樹種為佳，惟尚須考量原物料成本。又所選擇非牛樟段木之抽出成分亦會影響牛樟芝的生長，惟本研究因欠缺分析儀器而未深入進行比較。至於pH值則以5.5—6.5較有利於菌絲體生長。

<p>(五) 既使在非牛樟樹材段木之牛樟芝菌絲體培養及子實體出菇誘導成功，但據結果與討論(二)，圖3、4的結果，所長出菌絲體，經HPLC分析結果，其成分確與野生牛樟芝者不同，是否具有與野生者同樣之經濟價值。</p>	<p>非牛樟樹材段木之牛樟芝菌絲體培養及子實體，其成分確與野生牛樟芝者不同，勢無法與野生者同樣之經濟價值，惟或可舒緩民間供不應求壓力。</p>
<p>(六) 第1頁，材料與方法，建議分開描述；第2頁，所選非牛樟段木為杉科、樟科、及殼斗科，但第3頁，結果第二點中又採用山黃麻、銀含歡及椴果？這些是否為造林樹種？請加以說明。</p>	<p>山黃麻、銀含歡及椴果並非造林樹種，乃研究人員利用周遭可得之材料加以試驗，接種成功率100%，惟後期除福杉、香樟外，餘菌絲體大都消失且無子實體發生。顯示菌絲體無法深入定殖，而樟科樹種則可以，福杉尚需經多項前處理才可以。</p>
<p>(七) 培養條件已確定有成效者，建請敘明。</p>	<p>已擬訂福杉牛樟芝菌種培養技術標準作業流程，至於樟科樹種則仿倣牛樟樹材段木處理都有子實體發生，惟需注意溫、濕度差(因此需有適當之堆放)與菌種品質。</p>

二、期末簡報審查意見回覆表

審查意見	意見回覆
(一) 符合期末審查標準。	遵照辦理。
(二) 中英摘要「福杉」或「福杉樹」,「牛樟」及「香樟」,建議附註學名,又福杉應該是早期對杉木之稱呼,台灣產杉木屬包括杉木(又稱香杉、巒大杉, China-fir), 廣葉杉(Large-leaved China-fir), 白葉杉(又稱油杉, Glaucous China-fir), 及大點兩(Daiten-u), 本研究試材採用那一種杉木, 建請查明。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 遵照辦理。 2. 本研究試材採用廣葉杉(<i>Cunninghamia lanceolata</i>)。
(三) 第2頁,計畫目的第1行之牛樟芝學名所引用文獻作者寫法建議修改為(Zang and Su,1990; Chang and Chou,1995)。	遵照辦理。
(四) 第6頁,段木接種牛樟芝菌種培養技術標準作業流程,建議在流程圖底下補充標題;圖的標題建議放置在圖下,及圖中之註記請標示清晰,如標題已顯示該圖之意義,圖中不須再重複出現相關文字,請查明修正。	遵照辦理。
(五) 圖11,造林樹種段木不同藥物處理,建請註明所使用藥物名稱。又文中提到牛樟芝菌絲體在福杉與香樟段木上定殖60~90天,惟圖12、13僅有福杉而無香樟;圖15,牛樟、香樟及福杉段木所產生之牛樟芝子實體總三萜類相對量,顯然與圖18、20者有明顯出入,原因為何?◎而所	<ol style="list-style-type: none"> 1. 遵照辦理。 2. 本研究試材採所使用藥物包括 0.1M 硫酸、0.1M 鹽酸、0.1M 硝酸、0.1M 氫氧化鈉、0.1M 氫氧化鈣等多種溶液進行處理。 3. 三種圖分別代表不同 HPLC 測試結果,如圖 15 為同時接種不同樹種段木所產生之牛樟芝子實體總三萜類相對量。圖

<p>稱不同時期接種，建請說明。</p>	<p>18 為以 HPLC 比較不同時期接種、不同段木產生之牛樟芝子實體三萜類相對分量。以上兩圖測試對象皆為牛樟芝子實體，而不同時期接種是指非同時接種且牛樟芝子實體菇齡不同之意。至圖 20 是比較不同樹種段木以 HPLC 所能檢測之相對分量，而非牛樟芝子實體。</p>
<p>(六) 結果與討論，建請依實施方法之順序，分別撰寫重要結果及討論，以呈現試驗方法中各變因之影響效果及相關性；第5頁，文中敘述段木包括柳杉、台灣杉及江西樟，但未見其生產牛樟芝之試驗結果。</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 遵照辦理。 2. 本計畫接種造林樹種段木如柳杉、台灣杉、福杉、香樟及中國大陸產江西樟等非牛樟樹材，分別培養 30—60 天後長出紅色菌絲體，成功率 100%，惟後期除福杉、香樟及江西樟外，餘如柳杉、台灣杉之菌絲體大都消失且無子實體發生。
<p>(七) 結果與討論第二項，利用農產品加工剩餘物，加入多種營養成分，適合牛樟芝菌絲體在造林樹種段木上大量生長與定殖，其所用農產品加工剩餘物和多種營養成分為何？請加以說明。</p>	<p>農產品加工剩餘物為蔗渣，加入多種營養成分為麥芽糖、有機酸及蛋白質，並調整為弱酸性。</p>
<p>(八) 香樟段木所得子實體，經水煮後服用有頭暈、上顎牙床、後頸部麻痺現象，是何原因？是否有其他成分所影響，是否已放棄使用香樟。另福杉與香杉係屬變種，香杉是否也有類似成效，其往後發展潛力是否有深入探討必要；其他闊葉樹種，建議未來可列入考量。</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 以 HPLC 比較香樟樹與牛樟樹不同樹種段木成分種類，以香樟樹最多，牛樟樹則略少於香樟樹，因此推論香樟段木有其他成分影響所得牛樟芝子實體，有待掌握有效成分後再與生醫部門合作探討。 2. 香杉亦可成功植菌，但原物料價格過高而不予考慮。 <p>其他闊葉樹種如楓香等未來將列入考量。</p>
<p>(九) 參考文獻建議依照中華林學季刊稿約格式撰寫。</p>	<p>遵照辦理。</p>



圖 1 牛樟芝鑑別培養基上所形成的不同呈色之單孢菌落



圖 2 中繼增殖培養基易觀察出菌種中隱藏的深綠色菌落木黴菌



圖 3 液態菌種之大量製作



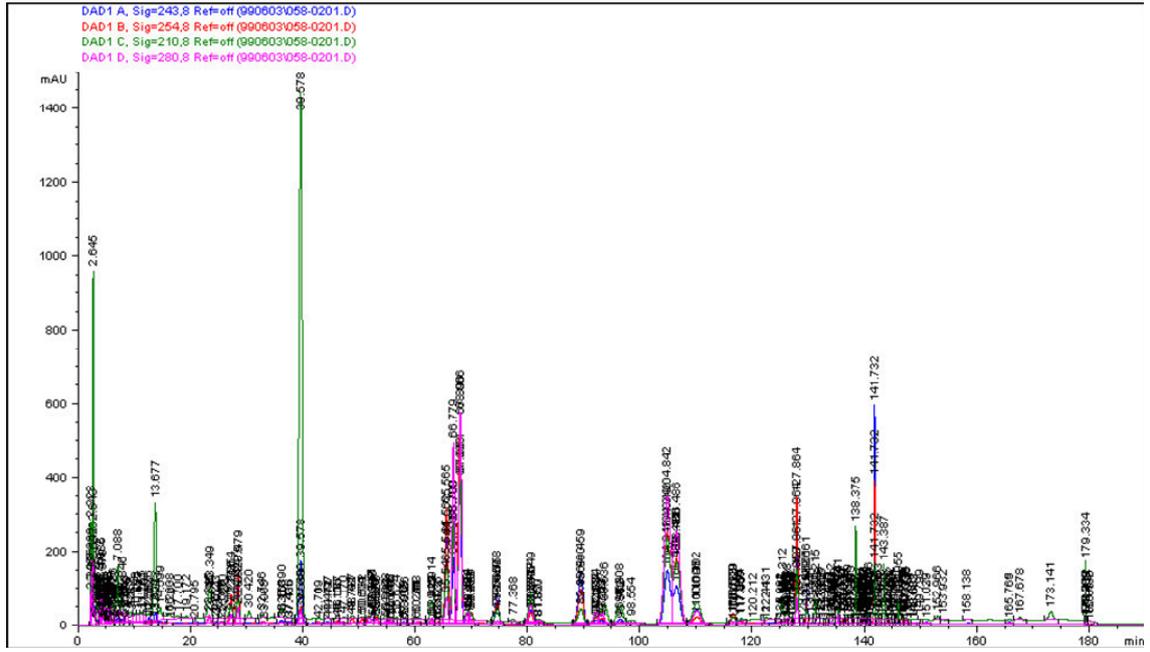
圖 4 橘紅色系牛樟芝



圖 5 白色系牛樟芝



圖 6 黃色系牛樟芝



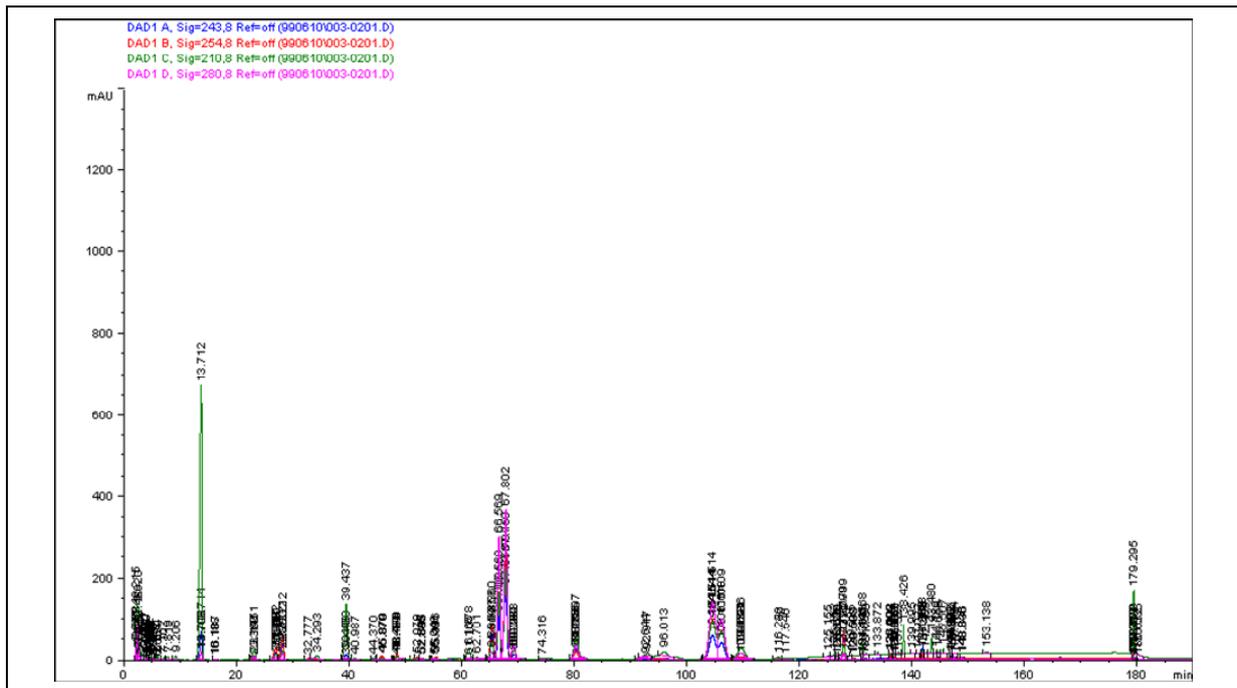


圖 9 黃色系牛樟芝 HPLC 圖



圖 10 牛樟芝菌種接種福杉長出紅色菌絲體



圖 11 造林樹種段木不同藥物處理

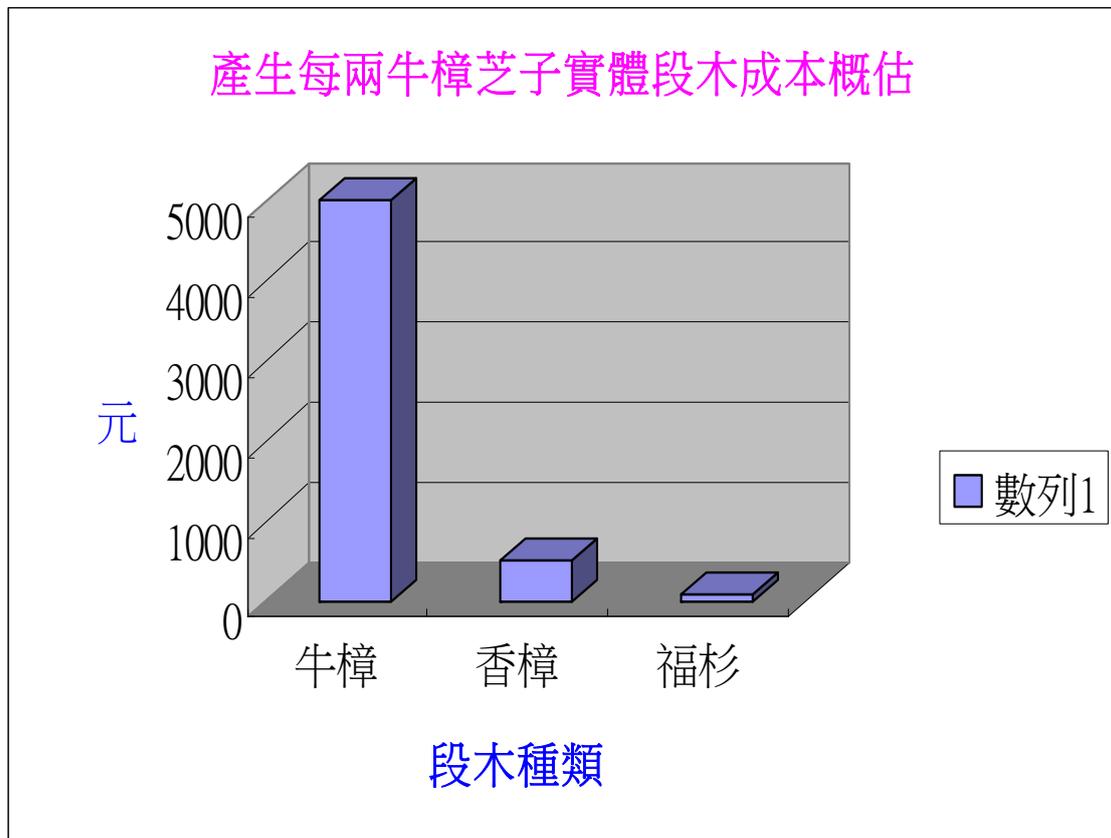


圖 12 牛樟芝菌種接種福杉長出原基體



圖 13 牛樟芝菌種接種福杉長出菌絲體與紅色原基體

圖 14 ↓



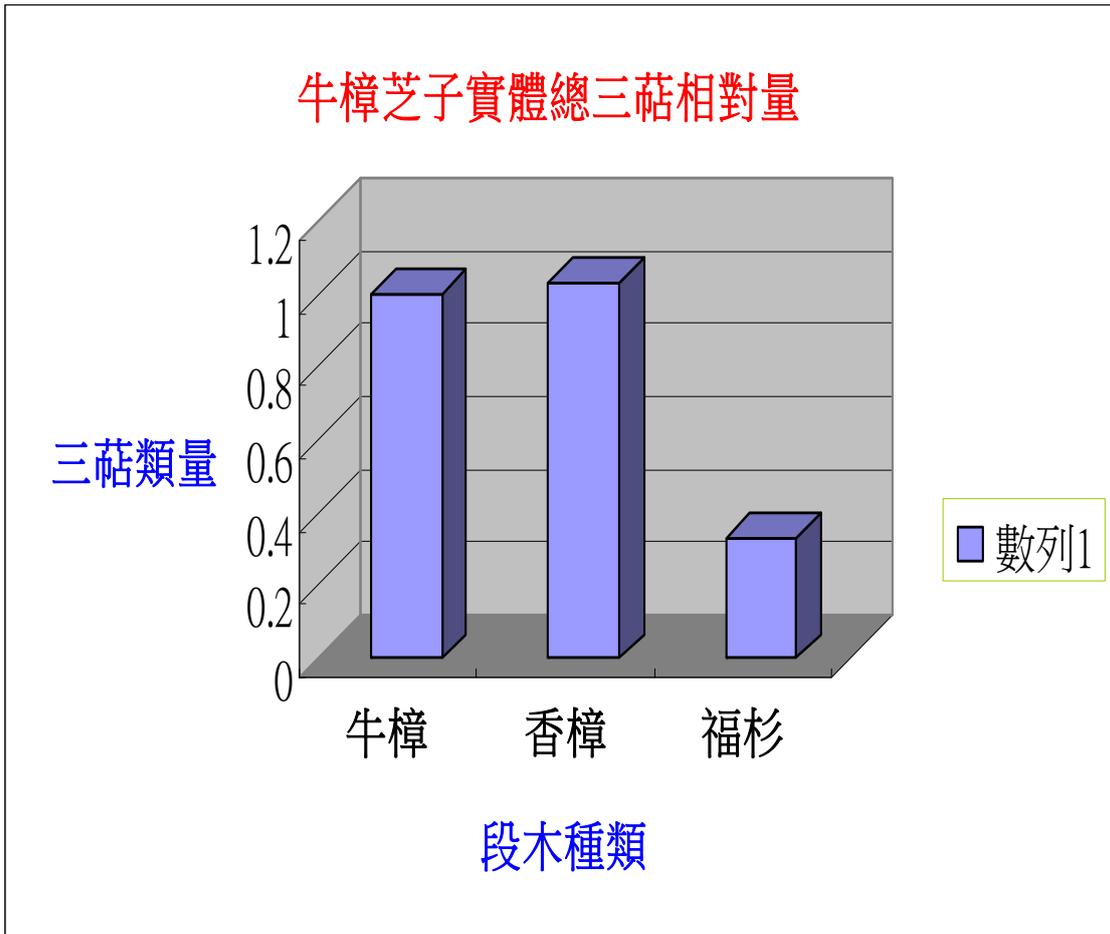


圖 15 同時接種不同樹種段木所產生之牛樟芝子實體總三菇類相對量



圖 16 層牛樟芝之 1



圖 17 層牛樟芝之 2

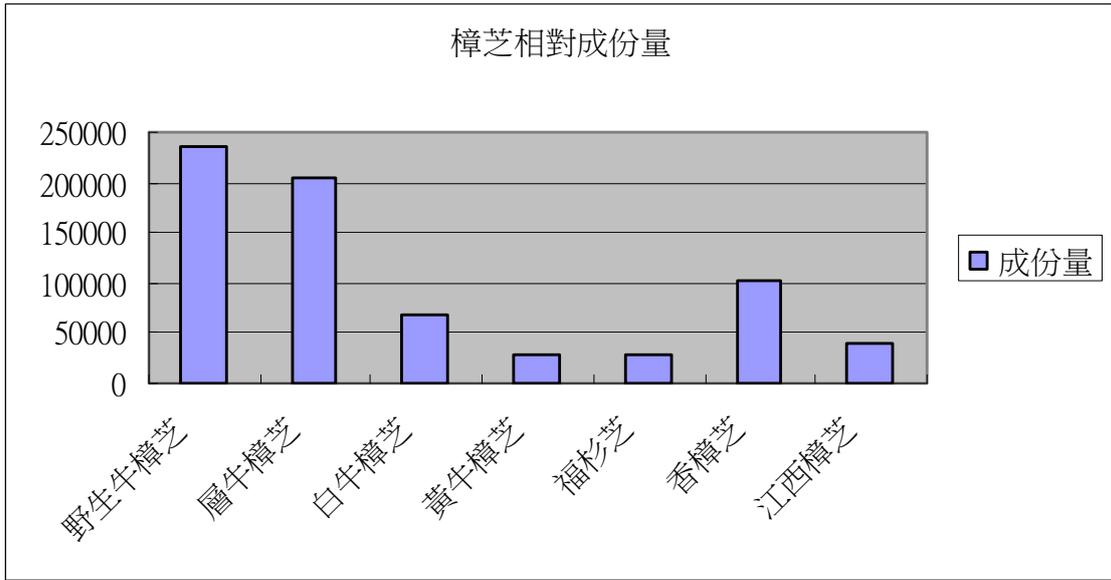


圖 18 以 HPLC 比較不同時期接種、不同段木產生之子實體三萜類相對成份量

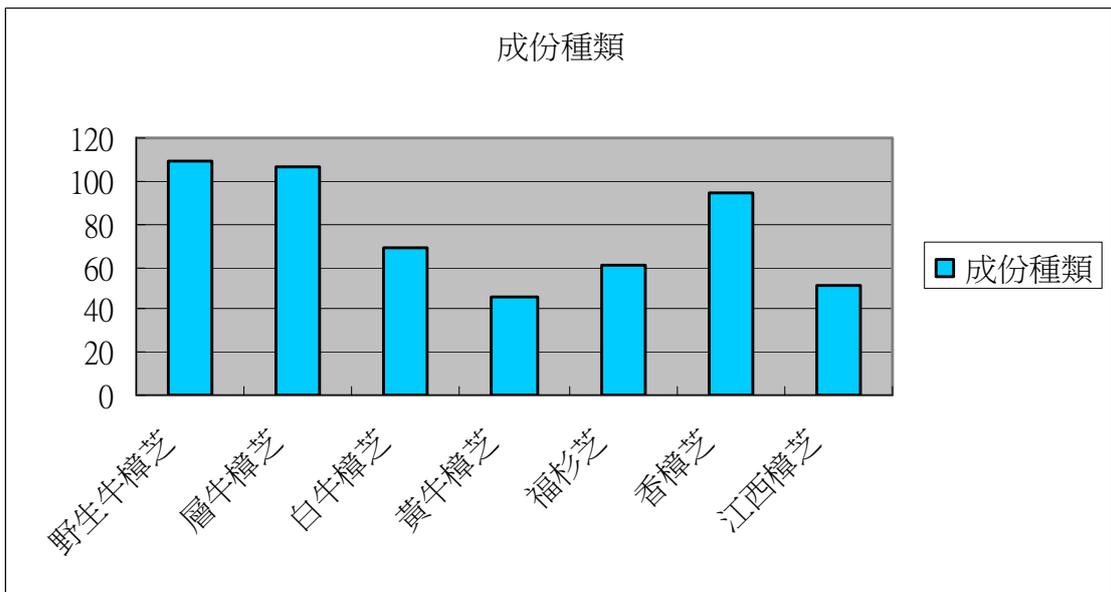


圖 19 以 HPLC 比較不同時期接種、不同段木產生之子實體三萜類成分種類

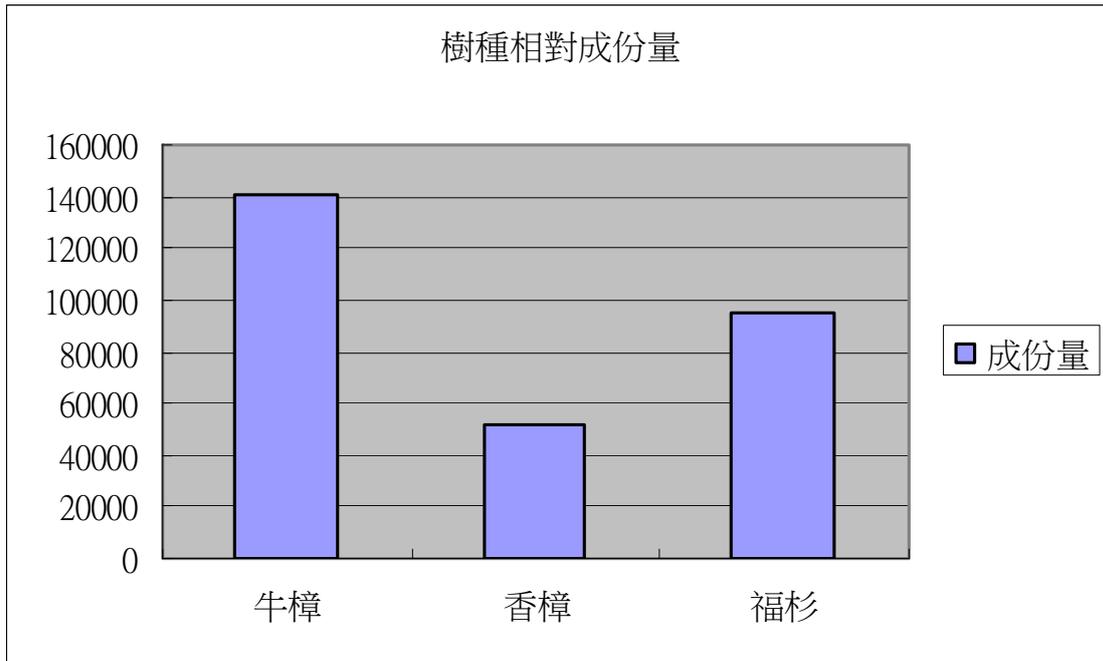


圖 20 以 HPLC 比較牛樟樹、福杉樹及香樟樹段木相對成份量

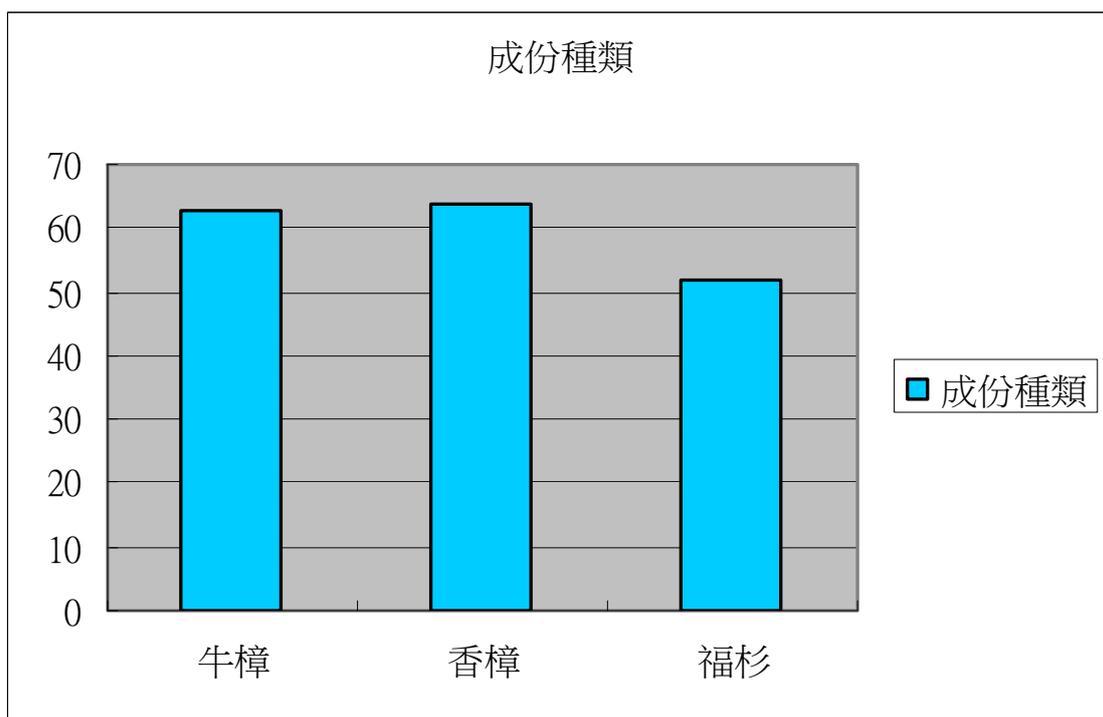


圖 21 以 HPLC 比較牛樟樹、福杉樹及香樟樹段木成分種類

