

靈芝與熱帶靈芝子實體形態與 菌絲純培養之比較

張東柱

摘 要

臺灣相思樹(*Acacia confusa* Merrill)常受靈芝(*Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst.)與熱帶靈芝(*G. tropicum* (Jungh.) Bres.)為害,引起根腐及木材白腐朽。然而從子實體的外觀不易鑑別這兩種靈芝。本文則以子實體的微細構造與菌絲純培養的特性比較靈芝與熱帶靈芝的不同。靈芝擔孢子的疣狀刺較不明顯且不對稱而熱帶靈芝之疣狀刺較明顯且對稱。靈芝與熱帶靈芝的擔孢子在掃描式電子顯微鏡下觀察時,其表面構造均呈波浪狀凹槽及小孔洞分佈其間。靈芝與熱帶靈芝的特化菌絲均類似。靈芝成熟的厚膜孢子呈短紡錘形到橢圓形,而熱帶靈芝為長紡錘形。靈芝菌落表面呈規則,而熱帶靈芝偶呈扇形面。

關鍵詞: 靈芝、熱帶靈芝、子實體形態、菌絲純培養。

張東柱 1991. 靈芝與熱帶靈芝子實體形態與菌絲純培養之比較。林業試驗所研究報告季刊, 6(4):397-406.

Comparison of Basidiocarp Morphology and Pure Culture between *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tropicum*

Tun-tschu Chang

[Summary]

Root rot and white rot of *Acacia confusa* Merrill are usually caused by *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. and *G. tropicum* (Jungh.) Bres. in Taiwan. The fruiting bodies of *G. lucidum* and *G. tropicum* are indistinguishable. In the present report, the microscopic structures of the fruiting bodies and the characters of the pure culture in these two *Ganoderma* spp. were compared. The basidiospores of *G. lucidum* were not symmetric with indistinctive echinulation at maturity, while those of *G. tropicum* were relatively symmetric with distinctive echinulation. Scanning electron microscopy revealed that *G. lucidum* and *G. tropicum* had basidiospores with sinuous depression and minute holes. These two *Ganoderma* spp. shared the common morphological characters of generative, fiber, staghorn hyphae, and cuticular cells. Chlamydospores of *G. lucidum* were ovoid to ellipsoid, while those of *G. tropicum* were oblong. Colony of *G. lucidum* evenly distributed, while that of *G. tropicum* sometimes presented sector.

Key Words: *Ganoderma lucidum*, *G. tropicum*, morphology, pure culture.

Chang, Tun-tschu. 1991. Comparison of Basidiocarp Morphology and Pure Culture between *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tropicum*. Bull. Taiwan For. Res. Inst. New Series. 6(4)397-406.

一、緒言

根據以前的紀錄，寄生於臺灣相思樹的靈芝屬菌類有四種(侯定，1950；Hou，1950；Sawada，1931；1942；Ying *et. al.*, 1976)。分別是樹舌(*G. applanatum* (Pers. ex Gray) Pat.)、靈芝(*G. lucidum*)、重蓋靈芝(*G. multipilea* Hou)與熱帶靈芝(*G. tropicum*)。其中樹舌從子實體的外形與菌蓋皮殼(crust)的構造很容易與其它三種靈芝區分(Furtado，1965；Imazeki，1943；Steyaert，1980)。然靈芝、重蓋靈芝與熱帶靈芝在臺灣相思樹寄主上甚難區別。

在擔子菌綱(Basidiomycetes)之無褶菌目(Aphyllphorales)中有很多菌類在形態上很容易受立地因子的影響而改變；即子實體的形態與子實層的外形(hymenial configuration)常因環境的不同而有所變異(Donk，1971)。由於子實體的形態常因立地因子而表現非一致性，使得近代對於無褶菌目菌類的分類除以子實體為依據外，純培養(pure culture)的菌落與菌絲特性(Nobles，1965；Stalpers，1978)和交配研究(interfertility study)(Bertbier，1976)也為相當有效的證據。

侯氏(1950)主要依據菌蓋重蓋的特徵建立重蓋靈芝新種，但以現在菌類學的觀念似乎非常值得商榷。作者曾利用靈芝與重蓋靈芝的單擔孢子菌株進行雜交試驗，結果顯示重蓋靈芝是靈芝的同物異名，因兩菌種的單擔孢子菌株可以雜交(張東柱、陳道，1986)。在同一研究中也顯示靈芝與熱帶靈芝並非同一種。本文則以子實體的微細構造及菌絲純培養比較靈芝與熱帶靈芝的不同，以做為鑑定的依據。

二、材料與方法

(一)供試菌種

Ganoderma lucidum 與 *G. tropicum* 的子實體均採自臺灣相思樹。*G. lucidum* 採於臺大校園(NTUG 001)而 *G. tropicum* 則採於臺大農場(NTUG 031)。新鮮子實體供組織分離培養於WA(2% agar)。獲得純培養菌株後，移植於

PDA(potato dextrose agar)。此為雙核體菌株。

單擔孢子菌株的分離：將兩種靈芝雙核體的菌株以人工培養方法形成子實體。將成熟子實體放入已用70%酒精擦拭過的鐘罩，鐘罩口用殺菌棉花塞著或殺菌培養皿蓋著，以保持無菌。同時在子實體菌孔下方黏上稱藥紙，以收集釋放的擔孢子。將孢子保存在殺菌瓶中，並放置在4-10°C之冰箱中備用。單孢菌株採用稀釋法分離。

(二)子實體形態與菌絲純培養性狀

子實體的形態觀察：根據Teixera(1962)和Furtado(1965)的方法，將子實體自新生帶到成熟區，從菌蓋表面、木栓層至菌管層，做徒手切片。將切下的薄片置於已滴入一滴2% KOH或lactophenol cotton blue之載玻片上，再覆以蓋玻片，然後用光學顯微鏡(Nikon 87082)觀察；以目鏡測微器(micrometer)測量其形態特徵的大小，並以顯微照相機(Nikon EFM)照相。顯微照相皆使用ASA 32(Kodak PANATOMIC-X Film)的底片。

掃描式電子顯微鏡觀察擔孢子：使用雙面膠帶將不經固定處理的擔孢子粘著於載物臺上，以離子真空蒸發器(ion coater Ei Ko Enginerring IB-2)進行金(gold)之單層電鍍，再以掃描式電子顯微鏡(Hitachi S450)加速電壓15KV下觀察，並以Kodak vp 120 film照像記錄。

菌絲與菌落的觀察：供試菌種為雙核體菌株與單核體菌株，培養在PDA和MA(2% malt extract, 2% agar)平面培養基，28°C無光下，每一處理三重複。每星期以顯微鏡觀察菌絲的形態、種類及大小、及菌落形態、生長帶和顏色，連續三星期，觀察的方法主要參照 Nobles(1965)與 Stalpers(1978)。

三、結果

(一)子實體形態之觀察

1. 肉眼及光學顯微下觀察之形態特徵
靈芝(*G. lucidum*)(圖1,2)

菌體具中生、側生或偏生的菌柄(stipes)，稀為無柄；木栓化至革質化。菌蓋(pileus)直徑最大



圖1. 靈芝的子實體。
Fig. 1. Fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*.

達15公分，厚0.4~2公分；腎形至近圓形；表面平滑，稍具同心環溝或放射狀之縱紋；邊緣整齊或波浪，扁薄或厚鈍；外形平展或下捲少見上翹。菌柄最長達15公分，直徑1~3公分，節瘤狀。菌體表面(pilear surface)具假漆狀光澤，初生時白黃色，後為磚紅色(brick red)(Ridgway 1912)至肝褐色(liver brown)，管口表面白至甘草黃色(chamois)。菌蓋實質(context)纖維狀木栓質，依顏色分為兩層，上層較淡下層較深，或顏色均勻不分層，淡青赭黃色(pale ochraceous-buff)銹色(russet)、土紅褐色(tawny)；厚0.2~1公分。菌管層(tubes)顏色及厚度約與菌蓋實質相同。

菌蓋皮殼(crust)上層為無色假漆狀分泌物，下層之柵狀細胞(hymeniderm elements)棍棒狀，

頂端膨大，大小為 $5.1-6.3-10.1 \times 25.3-32.8-50.5 \mu\text{m}$ 。菌管圓形至長橢圓形，直徑 $141-272-505 \mu\text{m}$ 。菌管隔膜(dissepiments)厚 $40-99-202 \mu\text{m}$ 。擔孢子卵形、不對稱、甘草黃色(chamois)、疣狀刺(echinulate)較不明顯，頂端平截或稀見圓鈍，成熟孢子大小 $5.5-6.0-7.0 \times 8.5-10.5-12.0 \mu\text{m}$ ，未成熟孢子大小 $4.0-5.0 \times 6.5-8.0 \mu\text{m}$ 。

菌絲系統為三次元(trimitic)；生殖菌絲(generative hyphae)薄壁透明無色，具扣子體，主要存在菌體之新生區。骨骼菌絲(skeletal hyphae)與結合菌絲(binding hyphae)存在菌體之各部份，無細胞內含物及隔膜。熱帶靈芝之菌絲系統均與靈芝類似。

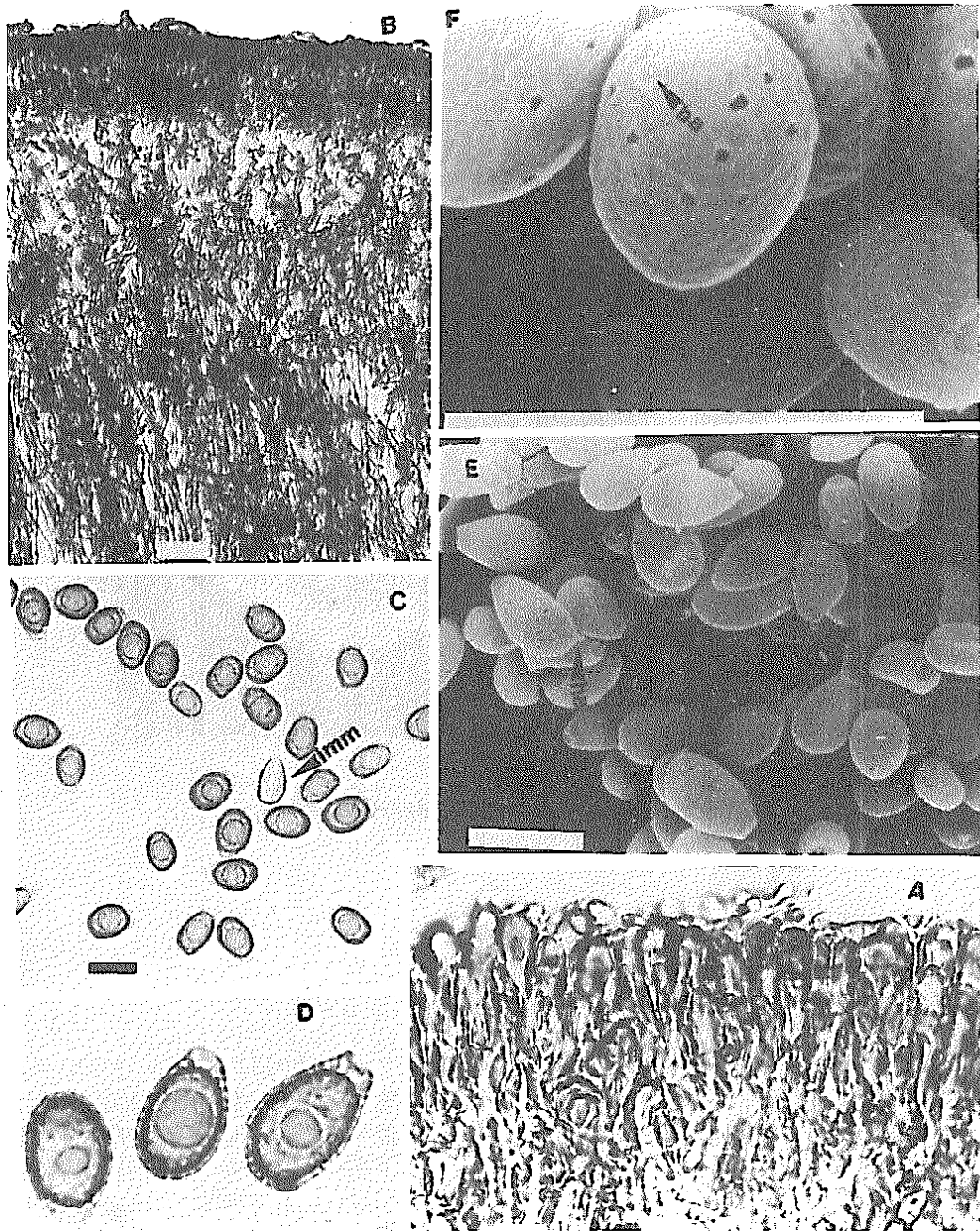


圖2. 靈芝子實體的切面及擔孢子。A-B，菌蓋皮殼的縱切面。A，線長=10 μm，B，線長=40 μm；C-D，光學顯微鏡下的擔孢子，箭頭所指為未成熟的擔孢子，線長=10 μm；E-F，掃描式電子顯微鏡下的擔孢子，箭頭所指為膺尾，線長=10 μm。

Fig. 2. Fruitbody section & Basidiospores of *G. lucidum*. A-B, thin section of cutis, A, bar=10 μm, B, bar=40 μm; C-D, basidiospores under light microscopy (LM), arrow indicating immature spore (imm), C-D, bar=10 μm; E-F, basidiospores under scanning electron microscopy (SEM), arrow indicating hilar appendix (ha), E-F, bar=10 μm.

熱帶靈芝(*G. tropicum*) (圖3,4)

菌體無柄或具側生與偏生的菌柄，木質化至革質化，菌蓋最大直徑達15公分，厚0.5~2.2公分。生於莖上之菌體為半圓形；近根及地際部之菌體具不長於5公分之菌柄，直徑1~3公分，節瘤狀，菌蓋表面具微或明顯之同心環溝及放射狀之縱紋；邊緣整齊或波浪狀，厚鈍或扁薄；外形平展或微下捲。菌體表面具假漆光澤，初白黃色後為肉桂色，肉桂色(cinnamon)粘土色(clay)。菌蓋實質纖維狀木質化；依顏色分為上下兩層，上層較淡，下層較深；或均勻無分層，肉桂色至胡桃色(walnut)厚0.3~1.2公分。菌管層顏色與菌蓋實質同色或較淡，厚0.2~0.8公分。

菌蓋皮殼上層為無色假分泌物，柵樣狀細胞

次卵形至短棍棒狀，大小5.1-7.6-10.1×11.4-12.6-15.2 μm 。管口圓形至橢圓形，直徑為141-157-182 μm 。擔孢子褐甘草色(brown chamois)，疣狀刺較明且對稱，頂端平截或圓尖，成熟孢子大小6.0-7.5-8.0×9.0-10.5-12.5 μm ，未成熟孢子大小3.5-4.0×6.5-8.0 μm 。

2. 掃描式電子顯微鏡觀察擔孢子表面構造特徵

靈芝(*G. lucidum*)與熱帶靈芝(*G. tropicum*)之擔孢子，於掃描式電子顯微鏡檢時，其表面均由一系列不規則波浪狀之淺凹槽(depression)，其間分佈著小孔洞(holes)。孢子基部有一個明顯連接擔孢子柄的臍尾(hilar appendix)。頂端截頭處均形成開口。(圖2-E, F. 4-D, E.)



圖3. 熱帶靈芝的子實體。

Fig. 3. Fruiting bodies of *Ganoderma tropicum*.

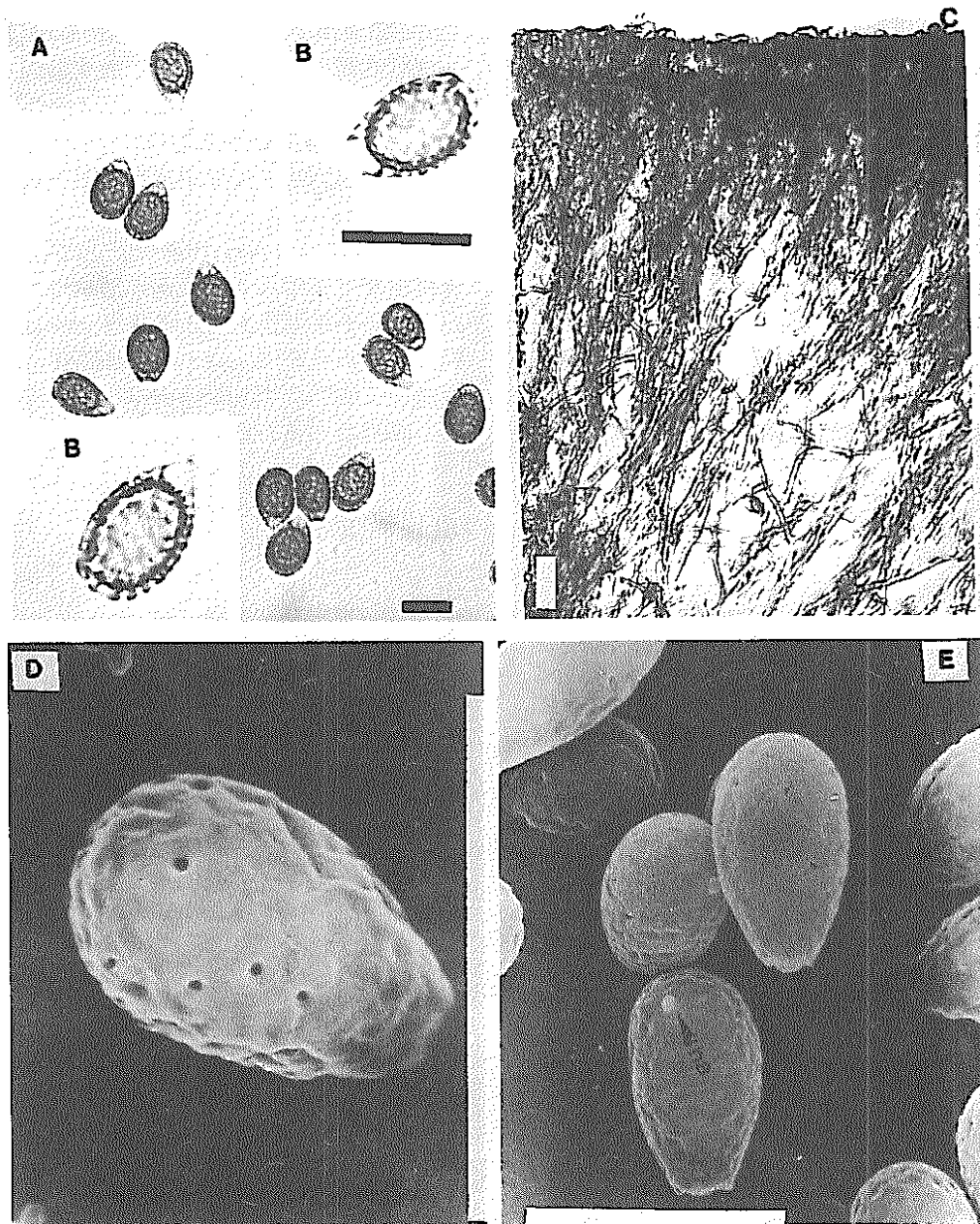


圖4. 熱帶靈芝子實體的切面及擔孢子。A-B, 光學顯微鏡下的擔孢子, 線長=10 μm ; C; 菌蓋皮殼的縱切面, 線長=40 μm ; D-E, 掃描式電子顯微鏡下的擔孢子, 箭頭所指為臍尾, 線長=10 μm 。

Fig. 4. Fruitbody section & basidiospores of *G. tropicum*. A-B, basidiospores under LM, A-B, bar=10 μm ; C, thin section of cutis, bar=40 μm ; D-E, basidiospores under SEM, arrow indicating hilar appendix, D-E, bar=40 μm .

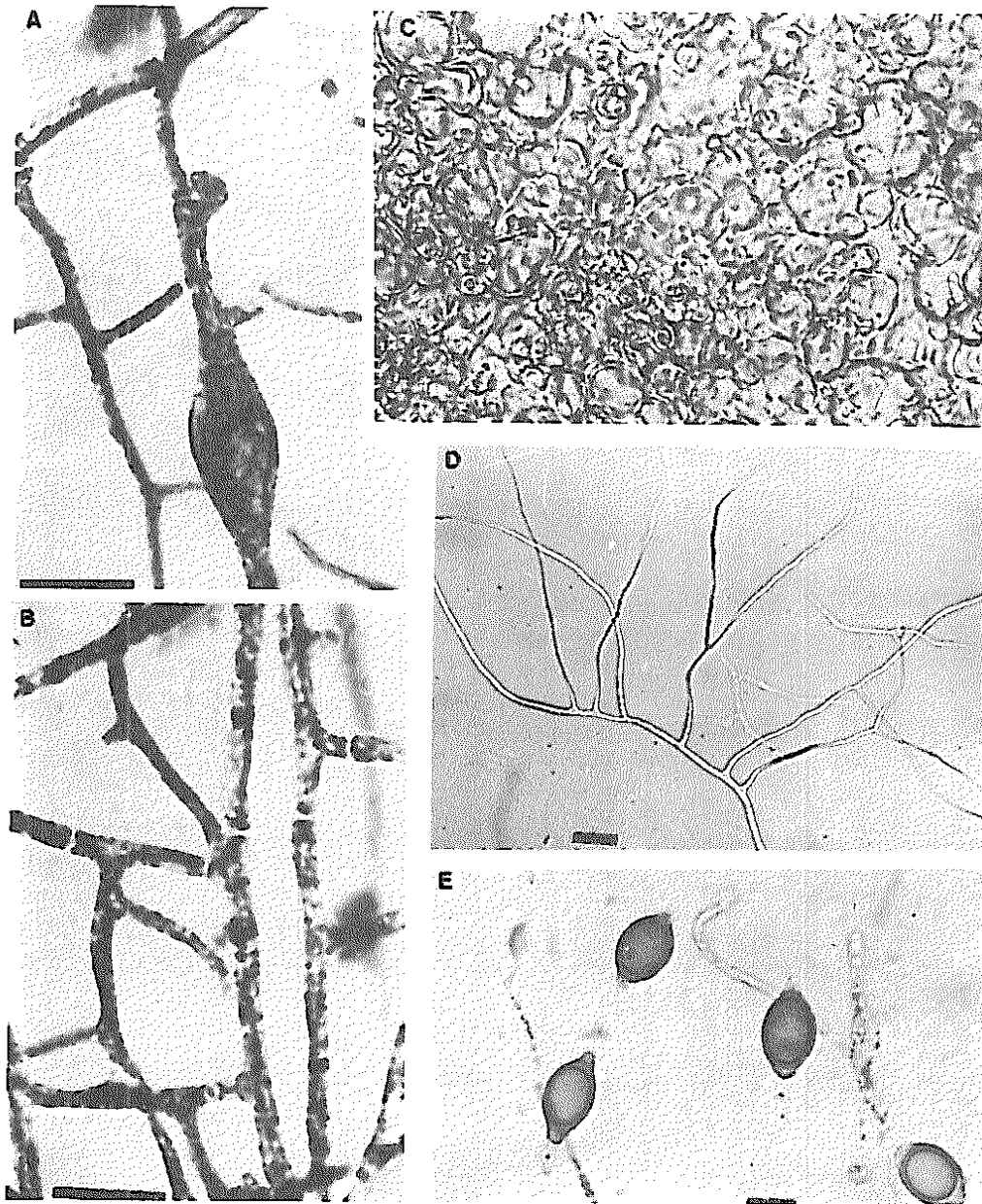


圖5. 靈芝純培養的菌絲系統。A，雙核體的生殖菌絲，線長=10 μm ；B，同核體的生殖菌絲，線長=10 μm ；C，角質化細胞，線長=20 μm ；D，纖維菌絲，線長=20 μm ；E，雙核體厚膜孢子，線長=10 μm 。

Fig. 5. Hyphal system of *G. lucidum* in pure culture. A, dikaryotic generative, bar=10 μm ; B, homokaryotic generative hyphae, bar=10 μm ; C, cuticular cells, bar=20 μm ; D, fiber hyphae, bar=20 μm ; E, chlamydospores of dikaryotic hyphae, bar=10 μm .

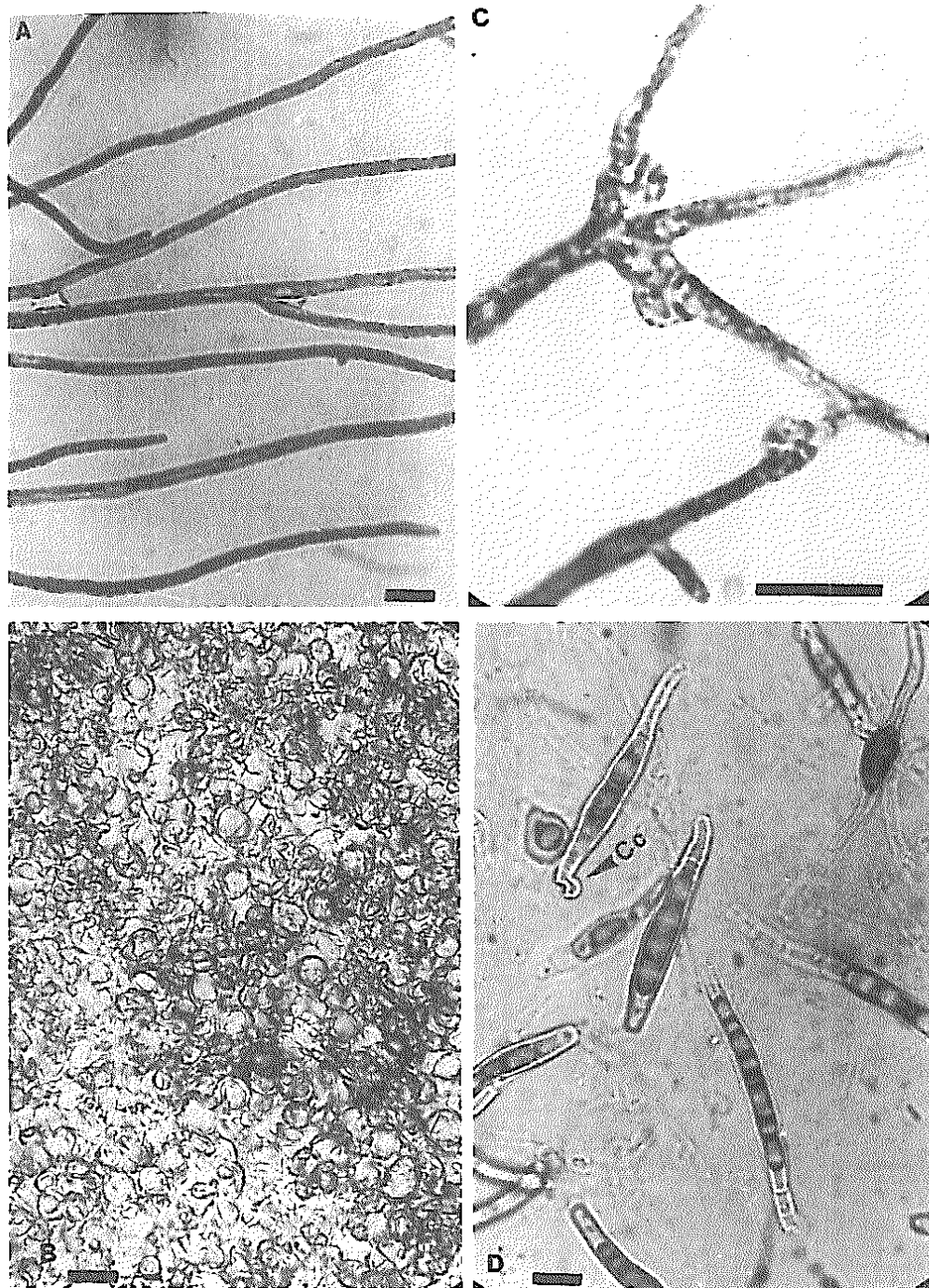


圖6. 熱帶靈芝純培養的菌絲系統。A, 同核體的生殖菌絲, 線長=10 μm ; B, 角質化細胞, 線長=20 μm ; C, 雙核體生殖菌絲, 線長=10 μm ; D, 雙核體厚膜孢子, 箭頭所指為扣子體(Cc), 線長=10 μm 。

Fig. 6. Hyphal system of *G. tropicum* in pure culture. A, homokaryotic generative hyphae, bar=10 μm ; B, cuticular cells, bar=20 μm ; C, dikaryotic generative hyphae, bar=10 μm ; D, chlamydospores of dikaryotic hyphae, arrow indicating clamp connection (Cc), bar=10 μm .

3. 菌絲純培養的性狀(圖5,6)

靈芝與熱帶靈芝的生殖菌絲均具厚膜孢子。兩菌種厚膜孢子的發育過程均類似；生殖菌絲生長一段時間後，細胞逐漸膨大且聚集了細胞內含物，初為長紡錘形之後內含物逐漸向菌絲細胞中心聚集，細胞壁加厚，顏色加深而形成成熟之厚膜孢子。老熟時兩端往往形成多層隔膜。靈芝成熟厚膜孢子為短紡錘形或橢圓形。熱帶靈芝成熟厚膜孢子仍為長紡錘形。

特化菌絲：靈芝與熱帶靈芝的特化菌絲很類似，共有三種；(1)纖維菌絲或骨骼菌絲(fiber or skeletal hyphae)，細長頂端多分枝，細胞壁厚而無內含物及隔膜，透明無色，此為氣生菌絲的主要成份。(2)公鹿角或叢枝菌絲(staghorn or witches' broom hyphae)，此菌絲非常細小，必須在較高倍之顯微鏡下才可清楚觀察。(3)角質化細胞(cuticular cells)，較老之菌落形成橢圓形或圓形角質化細胞，其排列如擬薄壁組織(pseudoparanchyma)，是構成堅固菌絲面的主要成份。同核體的菌絲特徵除生殖菌絲不具孢子體外，所有特徵均與雙核體類似。

靈芝與熱帶靈芝之菌落特徵頗為類似。生長初期為白色菌落，之後變為黃色呈黃褐色。靈芝的菌落均勻生長，但熱帶靈芝在不適當的環境下偶呈扇形面。

四、討論

熱帶靈芝與靈芝寄生臺灣相思樹相同寄主時，一般而言雖然帶靈芝菌柄較粗短，若生於樹幹上多為無柄半圓形較厚的菌體，但其並無一明顯的大小以資判別。因此鑑定靈芝與熱帶靈芝並不能僅用子實體之外形而決定，尚需以擔孢子的形態及菌蓋皮殼柵樣狀細胞與菌絲之純培養性質為依據。靈芝擔孢子長卵形稍不對稱，疣狀小刺細小不明顯，熱帶靈芝為正卵形，基部較寬，疣狀小刺較粗且明顯；靈芝純培養的厚膜孢子紡錘形至橢圓形，熱帶靈芝為長紡錘形至圓柱形。純培養菌落熱帶靈芝往往呈現扇形面，以上性質皆為鑑定重要的特徵。

Zhao *et al.* (1979) 依靈芝子實體菌蓋實質的顏色分成兩個亞組，靈芝亞組及紫芝亞組，靈芝亞組菌蓋實質分兩層或單層色澤淡，紫芝組為均勻深褐色，熱帶靈芝歸入紫芝亞組，然 Steyaert (1972) 描述熱帶靈芝菌蓋實質分成兩層。本試驗結果靈芝及熱帶靈芝其菌蓋實質分為不明

顯兩層，上層較淡，下層較深，與 Steyaert 的描述類似。兩菌擔孢子表面在掃描式電子顯微鏡下仍無明顯差異。綜言之，靈芝與熱帶靈芝形態上的鑑別主要根據擔孢子、菌蓋皮殼柵樣狀細胞及純培養厚膜孢子的形態。

誌謝

本文部份資料來自作者碩士論文，感謝故恩師陳道教授的指導與鼓勵。同時也感謝臺大植病系曾顯雄教授協助電顯的研究工作。

引用文獻

- 侯定. 1950. 臺灣產靈芝屬之分類研究。靈芝第一號：3-25。
- 張東柱、陳道. 1986. 臺灣數種靈芝菌細胞核行為、配對型與異核體形成之研究。植保會刊，28:231-240。
- Bertbier, J. 1976. Monographis des Typhula Fr., Pistillaria Fr. et genres voisins. Bull. mins. Soc. linn. Lyon, Nrmero special 213pp.
- Donk, M. A. 1971. Progress on the study of the classification of the higher basidiomycetes. pp. 3-25 In Peterson, R. H. (ed.) Evolution in the Higher Basidiomycetes. The Uni. Tennessee Press.
- Furtado, J. S. 1965. Relation of microstructures to the taxonomy of the ganodermoideae with special reference to the structure of cover of the pilear surface. Mycologia 57:588-611.
- Hou, D. 1950. A new species of *Ganoderma* from Taiwan. Quar. J. Taiwan Mus. 3:101-106.
- Imazeki, R. 1943. The genera of polyporaceae of Nippon (in Japanese and Latin). Bull. Tokyo Sci. Mus. 6:1-111.
- Nobles, M. K. 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting hymenomycetes. Can. J. Bot. 43:1097-1139.
- Ridgway, R. 1912. Color stradard and nomenclature.
- Sawada, K. 1931. Descriptive catalogue of the Formosan fung: Dept. Agr. Gov. Res. Ins. Formos. Repr. 51:76-78.
- Sawada, K. 1942. Ibid. 83:101-110.
- Stalpers, J. A. 1978. Identification of wood-

- inhabiting aphylophorales in pure culture. *Studies in Mycology* 16.
- Steyaert, R. L.** 1980. Study of some *Ganoderma* species. *Bull. Jard. Bot. natn. Belg.* 50(1/2):135-186.
- Teixera, A. R.** 1962. The taxonomy of the polyporaceae. *Biol. Rev.* 37:51-81.
- Ying, S. L., C. Y. Chien and R. W. Davidson.** 1976. Root rot of *Acacia confusa*. *Quart. J. Chinese For.* 9(3):17-21.
- Zhao, J. D., L. W. Xu and X. Q. Zhang.** 1979. Taxonomic studies on the subfamily ganodermoideae of China. *Acta microbiol. Sinica* 19(3):265-279.