



滕成龙,刘迪,尹钰涵,等.基于响应面法的杨树桑黄菌种液体培养基优化[J].黑龙江农业科学,2022(4):73-80.

基于响应面法的杨树桑黄菌种液体培养基优化

滕成龙¹,刘迪^{1,2,3},尹钰涵¹,郭建峰¹,刘爽¹,张涵¹,常悦³,陆源添¹

(1.延边大学农学院,吉林延吉 133002;2.延边大学农学院,吉林延吉 133002;3.延边大学融合学院,吉林延吉 133002)

摘要:杨树桑黄(*Sanghuangporus vaninii*)作为大型药用真菌,由于其生长年限长且开发不合理,导致其资源短缺,而通过液体发酵培养可以在短时间内得到大量菌丝体。本试验以菌丝体生物量为主要指标,对杨树桑黄液体培养基进行优化。通过响应面分析法对杨树桑黄液体培养基的碳源、氮源、无机盐进行筛选。结果表明:杨树桑黄 ST 菌株培养基的最佳碳源为葡萄糖,最佳无机盐为 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;最适培养基配方为葡萄糖 $34.44 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,蛋白胨 $7.26 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,酵母膏 $8.303 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $2.618 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,pH 自然;此时杨树桑黄生物量产量最高为 2.73305 g ,与预测值基本一致,优化的液体培养基可以显著提高杨树桑黄 ST 菌丝生物量。

关键词:杨树桑黄;液体培养基;响应面设计;菌丝体生物量

我国有非常丰富的菌物资源,大型真菌的次生代谢产物种类繁多,部分具有显著生物活性。因此,从大型真菌资源中发掘高效的天然药物成为近年来医药、食品行业研究的热点^[1]。2016 年菌物学家将桑黄及其相近种重新界定为桑黄孔菌属,此后桑黄开始重新出现在人们的视野,并迅速成为医药、食品行业关注的焦点^[2]。杨树桑黄(*Sanghuangporus vaninii*)属于锈革孔菌目(Hymenochaetales)、锈革孔菌科(Hymenochaetaceae)、桑黄属(*Sanghuangporus*),是一种大型珍稀药用真菌^[3-6]。其富含多种生物活性成分,如多糖、黄酮、萜类化合物等,真菌多糖是良好的生物活性物质,具有抗氧化、抑肿瘤、降血糖血脂及提高免疫力等多种功效^[7-11]。多糖可以从菌丝体、发酵液或子实体中分离提取获得。

目前人工栽培杨树桑黄子实体生长周期长,一般木段栽培需要 2~3 年才可以获得成熟的子实体。而液体发酵可以在较短时间内获得大量菌丝体,较人工栽培节约了大量的时间和成本。因此,对杨树桑黄的发酵培养基进行优化具有一定的研究价值。本研究应用响应面分析法中的 Plackett-Burman 析因试验、最陡爬坡设计、Box-Behnken 设计,以菌丝体生物量为响应值,对杨树

桑黄菌株 ST 的发酵培养基进行进一步优化,旨在为后续深入研究提供部分理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株为杨树桑黄菌株 ST,保藏于延边大学农学院食(药)用真菌研究所。

供试试剂为葡萄糖、琼脂、酵母浸膏、蛋白胨、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,均为分析纯。

供试仪器设备为 ZHTY-70 振荡培养箱,上海知楚仪器有限公司;烘干箱和酒精灯及部分常需设备等。

1.2 方法

1.2.1 培养基配制 PDA 固体培养基:去皮马铃薯 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,葡萄糖 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,琼脂 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,pH 自然, $1 \times 10^5 \text{ Pa}$, 121°C 湿热灭菌 20 min。

种子发酵培养基:去皮马铃薯 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,葡萄糖 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,pH 自然,分装 250 mL 三角瓶, $100 \text{ mL} \cdot \text{瓶}^{-1}$,封口膜封口, $1 \times 10^5 \text{ Pa}$, 121°C 湿热灭菌 20 min。

1.2.2 菌种活化 接种菌株 ST 菌种于 PDA 固体培养基,于恒温培养箱培养 8 d。

1.2.3 种子液发酵培养 将活化后的菌种用打孔器制成菌饼(直径 6 mm),每瓶接种 1 块菌饼, 28°C 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡培养 8 d。

发酵液培养:种子发酵液 $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 内切式匀浆机匀浆,以 5%(V/V)接种量将匀浆接种于发酵培养基, 28°C 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡培养 14 d,每组设 3 个重复。

收稿日期:2021-12-31

基金项目:延边大学校企合作项目(延大科合字[2020]2号);中韩国际农业技术合作项目(延大横向[2019]第19号);国家重点研发计划课题子课题(2017YFD0300104-02)。

第一作者:滕成龙(1997—),男,硕士研究生,从事食用菌栽培育种研究。E-mail:1050513781@qq.com。

通信作者:刘迪(1973—),男,博士,副教授,从事菌物发育生物学方面研究。E-mail:liudi@ybu.edu.cn。

1.2.4 生物量测定 发酵液过滤,菌丝体蒸馏水反复冲洗 3 次,移入烘干箱 50 ℃烘干至恒重,菌丝体干重测定,记录数据。

1.3 响应面优化设计

1.3.1 Plackett-Burman 析因试验 参照杜萍等^[12]的方法,并在此方法上做了简单的修改。取可能与菌株 ST 生物量相关的 8 个影响因子:去皮马铃薯(X_1)、葡萄糖(X_2)、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (X_3)、酵母浸膏(X_4)、蛋白胨(X_5)、 KH_2PO_4 (X_6)、 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (X_7)、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (X_8)和 3 个虚拟因子 X_9 、 X_{10} 、 X_{11} 。利用 Design-Expert 8.0.6 进行 11 个因子的 Plackett-Burman 析因试验设计。每个因子取高(+1)、低(-1)水平。设计 12 个试验,重复 3 次,响应值为菌株 ST 生物量。

1.3.2 最陡爬坡试验 在 Plackett-Burman 析因试验结果基础上进行最陡爬坡试验设计,根据显著因子对菌株 ST 生物量的影响大小设置浓度梯度,使其快速达到其最佳影响区域。显著因子的取值是依照各个显著因子效应的正负和大小决定的,正效应增加,负效应减小。

1.3.3 Box-Behnken 设计 基于上述试验结果基础,通过 Box-Behnken 设计来确定菌株 ST 生物量的主要影响因子及其水平。用杨树桑黄菌株 ST 菌丝体重量为试验响应值,同时通过对确定了 4 个因子和中心试验值设计试验。整个试验设计及数据分析都是通过 Design-Expert 8.0.6 软件完成的。

2 结果与分析

2.1 响应面优化杨树桑黄生物量培养基

2.1.1 Plackett-Burman 设计 选取试验次数 12 的 Plackett-Burman 设计验证 8 个影响因子对菌株 ST 生物量的影响。每个因子各取高(+1)低(-1)水平,以菌株 ST 生物量为响应值(表 1 和表 2),并通过 Design Expert 8.0.6 软件得到单因子线性模型:

$$R_1=0.41+0.039X_1-0.046X_2+0.059X_3+0.083X_4+0.11X_5-0.041X_7+0.045X_8+0.081X_9-0.057X_{10}$$

该模型的 P 值为 0.022 5,同时 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_8 的 P 值均小于 0.05,这表明它对杨树桑黄菌株 ST 生物量具有显著影响,通过线性模型的系数大小和各因素的显著水平对显著因子进行排序为 $X_5>X_4>X_3>X_2>X_8$,选取前 4 个显著影响因子进行最陡爬坡试验设计。

表 1 Plackett-Burman 设计及对杨树桑黄菌株 ST 菌丝体生物量的影响

因子	变量	水平		影响	P
		-1	+1		
去皮马铃薯	X_1	100	300	0.079	0.0583
葡萄糖	X_2	10	30	-0.092	0.0438
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	X_3	0.5	2.5	0.120	0.0275
酵母浸膏	X_4	2.0	8.0	0.170	0.0141
蛋白胨	X_5	1.5	7.5	0.220	0.0084
KH_2PO_4	X_6	1.5	4.5	0.025	0.2986
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	X_7	0.1	0.5	-0.018	0.0550
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	X_8	0.1	0.5	0.089	0.0464

表 2 Plackett-Burman 试验设计结果

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	X_{11}	X_{12}	生物量/g
1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	0.3808
2	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	0.2013
3	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	0.5893
4	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0.1296
5	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	0.3059
6	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	0.2760
7	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	0.6260
8	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	0.4099
9	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	0.2846
10	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	0.5254
11	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	0.8577
12	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	0.3022

2.1.2 最陡爬坡试验设计 通过 Plackett-Burman 试验结果可知,葡萄糖(X_2)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (X_3)、酵母浸膏(X_4)、蛋白胨(X_5)是杨树桑黄ST生物量影响的显著因子,通过 Plackett-Burman 对其进行试验设计。由表3可知,第4组试验杨树桑黄生物量产值最高,即当葡萄糖(X_2)为 $25.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (X_3) $2.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、酵母浸膏(X_4) $6.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、蛋白胨(X_5) $6.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时杨树桑黄的生物量最高,为 1.4454 g ,所以以第4组试验条件为 Box-Behnken 设计的中心点。

2.1.3 Box-Behnken 设计 Box-Behnken 设计及结果详见表4,第13组试验的杨树桑黄生物量产量最高,即葡萄糖(X_2)为 $30.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (X_3) $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、酵母浸膏(X_4) $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、蛋白胨(X_5) $7.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,杨树桑黄生物量产量最高,为 2.6713 g 。各因子经回归拟合后,得到对编码

变量的二次多元回归方程:

$$R_1=2.64-0.034X_5+0.15X_4+0.043X_3+0.37X_2-0.05X_5X_4-0.056X_5X_3-0.055X_5X_2+0.043X_4X_3-0.12X_4X_2+0.14X_3X_2-0.44X_5^2-0.52X_4^2-0.49X_3^2-0.42X_2^2$$

并且由表5中的数据可以看出, $P<0.0001$ 时该模型拟合度较高,可信度水平大于99.99%。

表3 最陡爬坡设计试验结果

试验号	蛋白胨/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	酵母膏/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	硫酸镁/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	葡萄糖/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	生物 量/ g
1	1.5	2	0.5	10	0.4994
2	3.0	3.5	1.0	15	0.7770
3	4.5	5.0	1.5	20	0.8750
4	6.0	6.5	2.0	25	1.4454
5	7.5	8.0	2.5	30	1.3589

表4 Box-Behnken 设计试验结果及各因素水平

试验号	编码变量水平				因素水平				生物量/ g
	X_2	X_3	X_4	X_5	葡萄糖/($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	硫酸镁/($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	酵母膏/($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	蛋白胨/($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	
1	1	1	0	0	40	3.5	8	7.5	2.2709
2	0	1	0	1	30	3.5	8	10.5	1.4826
3	0	0	1	-1	30	2.5	11	4.5	2.0284
4	0	0	0	0	30	2.5	8	7.5	2.6521
5	0	0	-1	-1	30	2.5	5	4.5	1.6851
6	1	0	0	1	40	2.5	8	10.5	2.0328
7	-1	0	-1	0	20	2.5	5	7.5	0.6679
8	0	1	0	-1	30	3.5	8	4.5	1.7599
9	0	0	0	0	30	2.5	8	7.5	2.6643
10	1	0	0	-1	40	2.5	8	4.5	2.1213
11	-1	1	0	0	20	3.5	8	7.5	1.4960
12	1	-1	0	0	40	1.5	8	7.5	1.9540
13	0	0	0	0	30	2.5	8	7.5	2.6713
14	1	0	-1	0	40	2.5	5	7.5	2.0438
15	0	-1	-1	0	30	1.5	5	7.5	1.5012
16	-1	0	0	-1	20	2.5	8	4.5	1.4282
17	0	0	0	0	30	2.5	8	7.5	2.5981
18	0	-1	0	-1	30	1.5	8	4.5	1.5322
19	0	0	-1	1	30	2.5	5	10.5	1.7271
20	0	-1	1	0	30	1.5	11	7.5	1.6739
21	0	1	-1	0	30	3.5	5	7.5	1.5293
22	0	1	1	0	30	3.5	11	7.5	1.8730
23	-1	-1	0	0	20	1.5	8	7.5	1.7588

表 4(续)

试验号	编码变量水平				因素水平				生物量/g
	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	葡萄糖/(g·L ⁻¹)	硫酸镁/(g·L ⁻¹)	酵母膏/(g·L ⁻¹)	蛋白胨/(g·L ⁻¹)	
24	0	0	0	0	30	2.5	8	7.5	2.6154
25	1	0	1	0	40	2.5	11	7.5	2.1895
26	-1	0	0	1	20	2.5	8	10.5	1.5595
27	-1	0	1	0	20	2.5	11	7.5	1.2931
28	0	-1	0	1	30	1.5	8	10.5	1.4789
29	0	0	1	1	30	2.5	11	10.5	1.8704

表 5 Box-Behnken 设计方差分析

来源	平方和	自由度	均方差	F	P
模型	5.750	14	0.410	9.14	< 0.0001
X ₅ -X ₅	0.014	1	0.014	0.30	0.5911
X ₄ -X ₄	0.260	1	0.260	5.83	0.0300
X ₃ -X ₃	0.022	1	0.022	0.49	0.4965
X ₂ -X ₂	1.620	1	1.620	36.04	< 0.0001
X ₅ X ₄	0.010	1	0.010	0.22	0.6444
X ₅ X ₃	0.013	1	0.013	0.28	0.6056
X ₅ X ₂	0.012	1	0.012	0.27	0.6123
X ₄ X ₃	7.31E-03	1	7.31E-03	0.16	0.6928
X ₄ X ₂	0.057	1	0.057	1.28	0.2771
X ₃ X ₂	0.084	1	0.084	1.87	0.1931
X ₅ ²	1.250	1	1.250	27.73	0.0001
X ₄ ²	1.730	1	1.730	38.48	< 0.0001
X ₃ ²	1.540	1	1.540	34.35	< 0.0001
X ₂ ²	1.170	1	1.170	26.03	0.0002

2.2 响应曲面及等高线分析

2.2.1 蛋白胨和酵母膏对 ST 菌丝体生物量的影响 如图 1 所示,当硫酸镁、葡糖糖添加量一定时,与蛋白胨(A)方向相比酵母膏(B)响应面较陡,酵母膏等高线密度明显高于沿蛋白胨移动的密度,说明此时酵母膏对菌丝体生物量的影响优于蛋白胨。

2.2.2 蛋白胨和硫酸镁对 ST 菌丝体生物量的影响 如图 2 所示,当酵母膏、葡萄糖添加量一定时,硫酸镁(C)响应面坡度与蛋白胨(A)方向相差无几,硫酸镁等高线密度明显高于沿蛋白胨移动的密度,说明此时硫酸镁对菌丝体生物量的影响优于蛋白胨。

2.2.3 蛋白胨和葡萄糖对 ST 菌丝体生物量的影响 如图 3 所示,当酵母膏、硫酸镁添加量一定时,与蛋白胨(A)方向相比葡萄糖(D)响应面较陡,葡萄糖等高线密度明显高于沿蛋白胨移动的密度,说明此时葡萄糖对菌丝体生物量的影响优

于蛋白胨。

2.2.4 酵母膏和硫酸镁对 ST 菌丝体生物量的影响 如图 4 所示,当蛋白胨、葡萄糖添加量一定时,与硫酸镁(C)方向相比酵母膏(B)响应面稍陡,但酵母膏等高线密度高于沿硫酸镁移动的密度,说明此时酵母膏对菌丝体生物量的影响优于硫酸镁。

2.2.5 酵母膏和葡萄糖对 ST 菌丝体生物量的影响 如图 5 所示,当蛋白胨、硫酸镁添加量一定时,与酵母膏(B)方向相比葡萄糖(D)响应面较陡,酵母膏等高线密度明显低于沿葡萄糖移动的密度,说明此时葡萄糖对菌丝体生物量的影响优于酵母膏。

2.2.6 硫酸镁和葡萄糖对 ST 菌丝体生物量的影响 如图 6 所示,当蛋白胨、酵母膏添加量一定时,与硫酸镁(C)方向相比葡萄糖(D)响应面较陡,硫酸镁等高线密度明显低于沿葡萄糖移动的密度,说明此时葡萄糖对菌丝体生物量的影响优于硫酸镁。

综上所述,4 个因素对 ST 生物量的影响顺序为葡糖糖>酵母膏>硫酸镁>蛋白胨,各因素相互作用的等高线并没有呈明显的椭圆形,响应曲线也相对较为平缓,说明各因素之间交互作用并不显著,与方差分析结果相符合。

2.2.7 验证试验 通过回归方程得出,杨树桑黄液体培养基最佳配方为葡萄糖 34.44 g·L⁻¹,蛋白胨 7.26 g·L⁻¹,酵母膏 8.303 g·L⁻¹,MgSO₄·7H₂O 2.618 g·L⁻¹,pH 自然,此时杨树桑黄生物量为 2.733 05 g。按照此条件对菌株 ST 重新进行液体震荡培养,3 次重复,最后得到杨树桑黄生物量的平均值为 2.732 80 g,试验值与预测值非常接近,证明拟合回归方程能够真实正确地反映各个因子对杨树桑黄生物量的影响,因此,可以证明响应面设计优化杨桑黄液体培养基的方法是可行的,回归方程是可靠的。

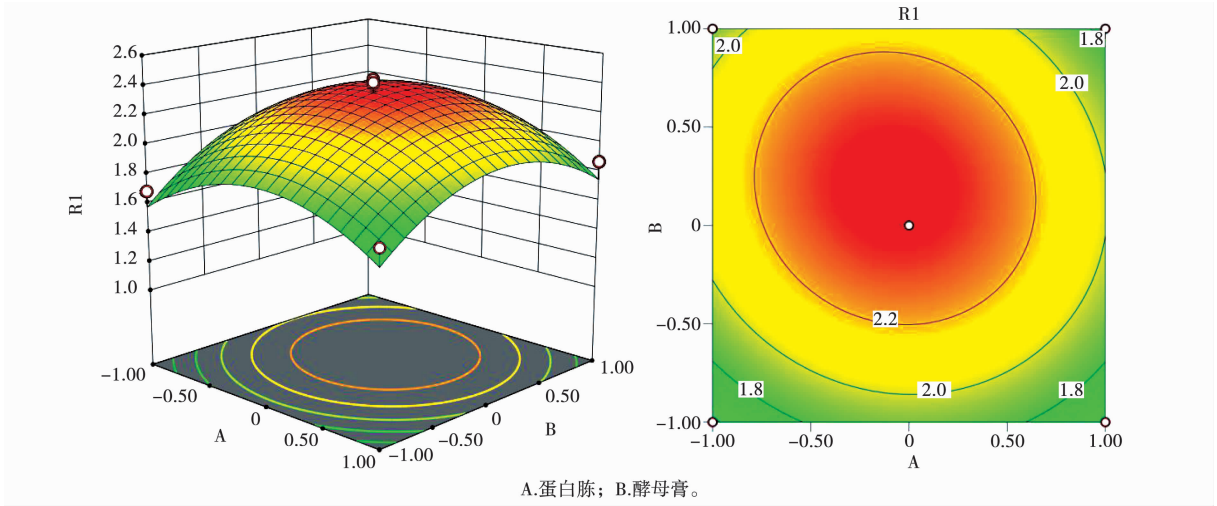


图 1 蛋白胨和酵母膏对 ST 菌丝体生物量影响的响应曲面图(左图)及等高线图(右图)

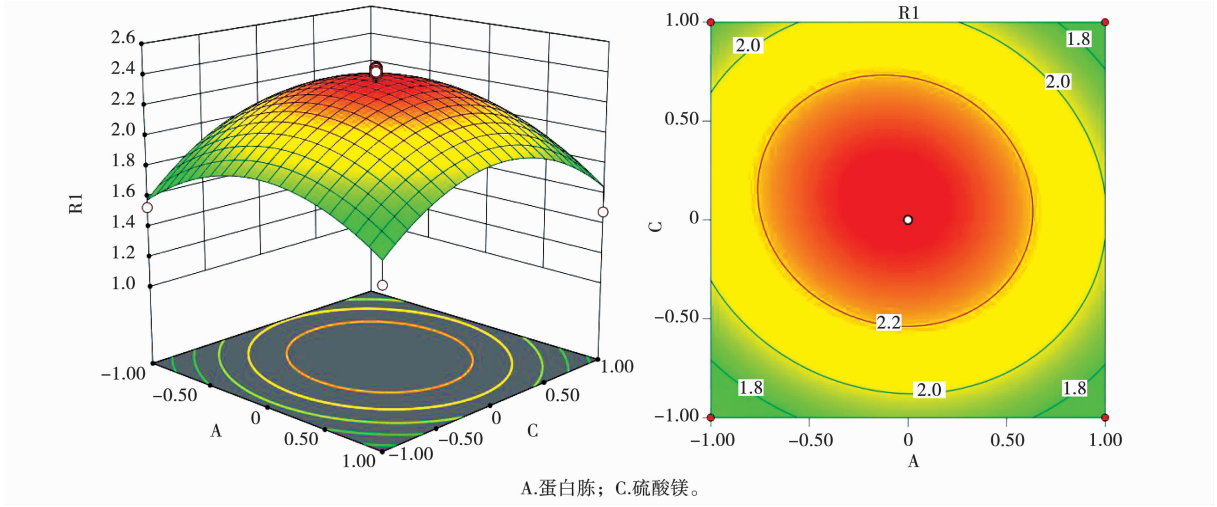


图 2 蛋白胨和硫酸镁对 ST 菌丝体生物量影响的响应曲面图(左图)及等高线图(右图)

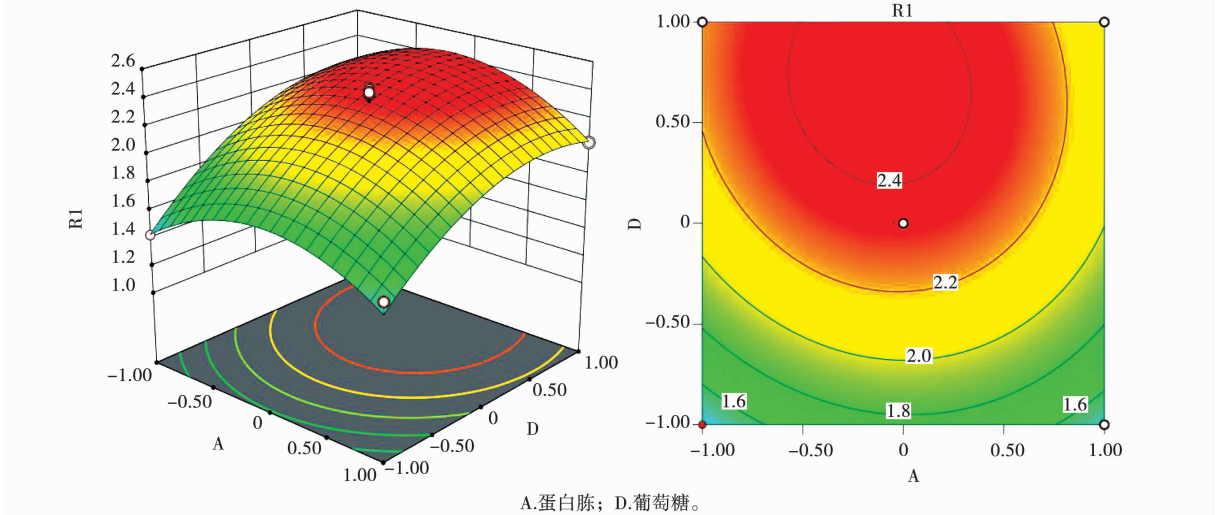


图 3 蛋白胨和葡萄糖对 ST 菌丝体生物量影响的响应曲面图(左图)和等高线图(右图)

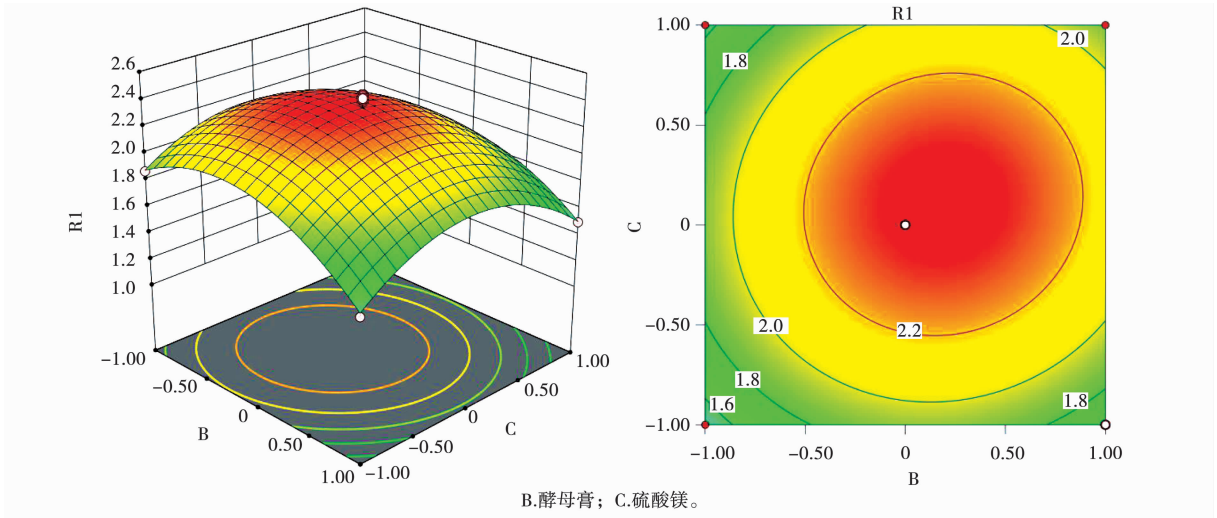


图 4 酵母膏和硫酸镁对 ST 菌丝体生物量影响的响应曲面图(左图)和等高线图(右图)

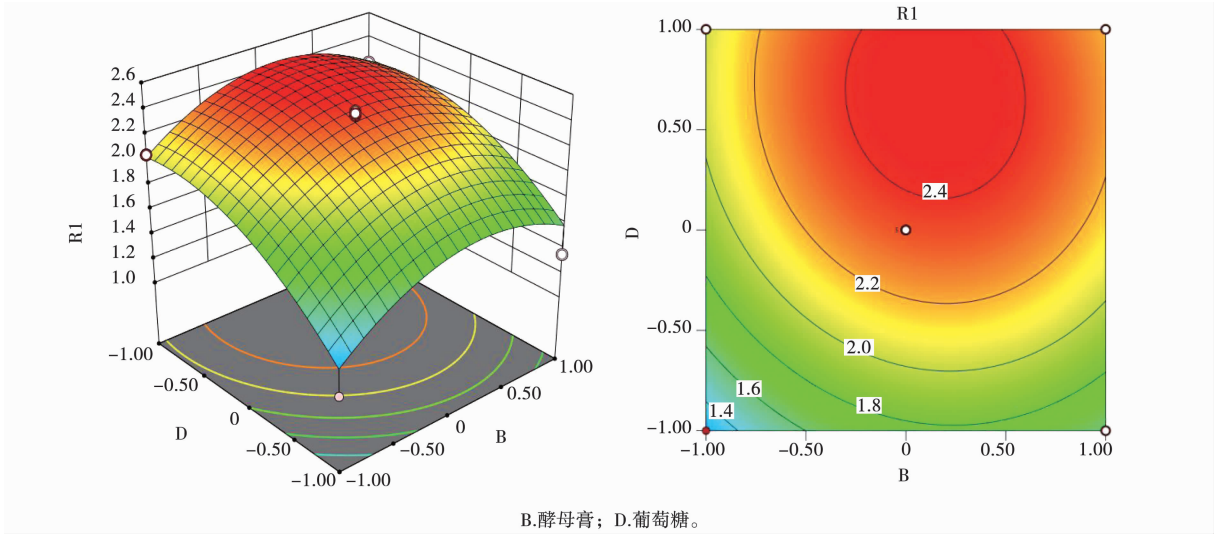


图 5 酵母膏和葡萄糖对 ST 菌丝体生物量影响的响应曲面图(左图)和等高线图(右图)

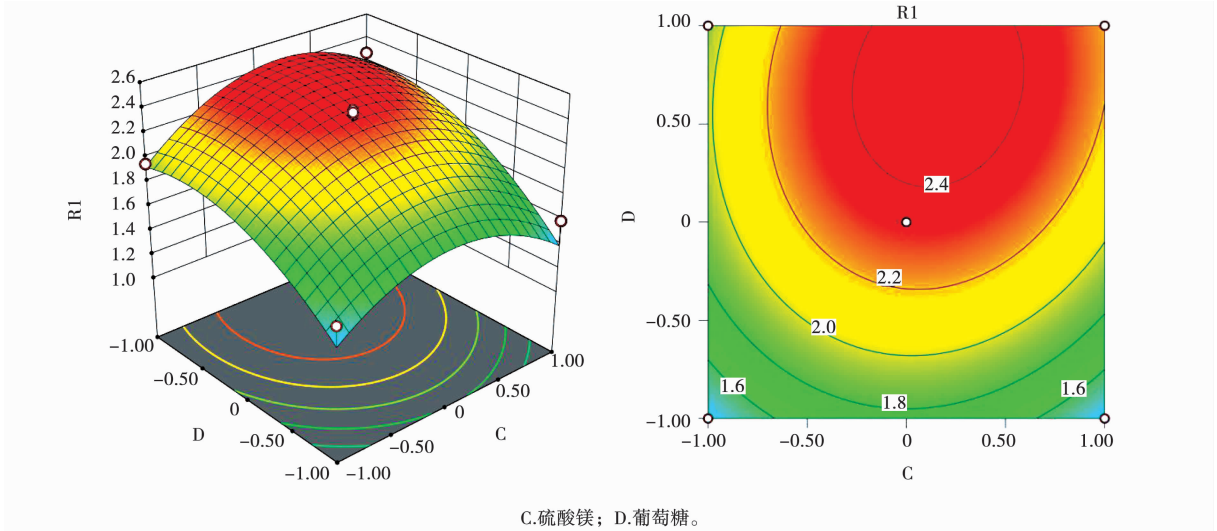


图 6 硫酸镁和葡萄糖对 ST 菌丝体生物量影响的响应曲面图(左图)和等高线图(右图)

3 讨论

通常优化培养基的方法主要通过单因素试验确定所选各因子适宜的水平范围,然后通过正交试验设计确定各个因素最优水平的最佳组合^[13-14]。单因素试验只讨论某单一因素的影响,因此该法能获得单一因素的最优水平。所考察的多个影响因子间往往可能存在交互作用,这是正交试验所能解决的。其优点在于可同时考虑多种因素,以期寻找最佳因素水平组合,但无法得到相应的回归方程来明确描述整个区域上众因素与响应值之间的某种函数关系。

响应面设计是在众多因素中寻找关键因素最优组合的一种经济有效的数理统计方法。可以通过试验设计和数据分析在一个相对短的时间内进行较少的试验,并建立一元到多元回归方程,以适合每个因素和响应值之间的关系,以及影响每个因素及其交互作用的响应值完全评估。其中 PB 析因应用于筛选众因子中的关键参数,最陡爬坡设计重点在于对 PB 析因试验结果的进一步优化使其更加趋近于试验的最优区域。而 Box-Behnken 设计通过试验设计对最陡爬坡试验和 PB 析因试验结果进行分析然后得出试验的最优组合^[15-18]。

通过对杨树桑黄菌株 ST 培养条件优化,明确了试验菌株的最佳碳源为葡萄糖,最佳氮源为蛋白胨和酵母膏,最佳无机盐为硫酸镁,这一结果与其他研究结果存在一定差异。唐思煜等^[19]研究结果表明桑黄(鲍氏层孔菌)最适碳源为蔗糖,最适氮源为氯化铵;钟石等^[20]研究发现,野生桑黄最适碳源为麦芽糖,最适氮源为酵母粉,最适无机盐为硫酸镁和磷酸二氢钾;李剑梅等^[21]报道,桑黄菌株 S-1 最适培养基为 PDA 培养基。造成差异的原因可能是桑黄的菌株不同或者产生的地域不同,使其生长所需的碳源、氮源、无机盐等营养条件存在明显差异,所以对杨树桑黄菌株 ST 进行培养基优化,明确其生长特性,对其开发利用具有重要意义。

4 结论

本试验通过对杨树桑黄进行液体培养基培养,然后针对其生物量进行 PB 析因分析,筛选出 1 个极显著影响因子为蛋白胨和 4 个显著影响因子分别为酵母浸膏、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、葡萄糖、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 。然后选取前 4 个影响因子(蛋白胨、酵母浸膏、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、葡萄糖),通过最陡爬坡试验确定各因子的最适梯度,以其为中心点进行 4 因素 3 水平 Box-Behnken 设计,对其发酵培养基进行了优化,结果表明杨树桑黄 ST 液体培养基最佳配方为葡萄糖 $34.44 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,蛋白胨 $7.26 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,酵母膏 $8.303 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $2.618 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,pH 自然。

参考文献:

- [1] 王欢,陈长宝,张波,等. 响应面法优化黄绿卷毛菇子实体多糖的提取工艺及其体外抗氧化活性研究[J]. 菌物学报, 2019,38(10):1681-1688.
- [2] 陈万超,杨焱,张劲松,等. 桑黄类真菌活性代谢产物的研究进展[J]. 食用菌学报,2020,27(4):188-201.
- [3] ZHOU L W,JOSEF V,CONY D,et al. Global diversity and taxonomy of the *Inonotus linteus* complex (Hymenochaetales,Basidiomycota): *Sanghuangporus* gen. nov., *Tropicoporus excentrodendri* and *T. guanacastensis* gen. et spp. nov., and 17 new combinations[J]. Fungal Diversity,2016, 77(1):335-347.
- [4] 何培新,吴双双,许春平. 杨树桑黄胞外多糖发酵条件优化及形态学研究[J]. 食品研究与开发,2016,37(2):172-176,194.
- [5] 齐梦娇,杜芳,胡清秀,等. 杨树桑黄蓝光受体蛋白编码基因 *SvWC1* 的克隆及原核表达[J]. 食用菌学报,2021,28(2): 11-17.
- [6] 陆娜,宋吉玲,袁卫东. 杨树桑黄的 ITS 特异性标记及生物学特性[J]. 浙江农业科学,2020,61(7):1358-1360.
- [7] HUANG C F,GANG L. Preparation and immunological activity of polysaccharides and their derivatives[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2018,105: 377-394.
- [8] KOTHARI D,PATEL S,KIM S K. Anticancer and other therapeutic relevance of mushroom polysaccharides: A holistic appraisal [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018,105:377-394.

- [9] PANG G B, WANG F J, ZHANG L W. Dose matters: Direct killing or immunoregulatory effects of natural polysaccharides in cancer treatment[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 195: 243-256.
- [10] YU Y, SHEN M Y, SONG Q Q, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 183: 91-101.
- [11] RUTHES A C, SMIDERLE F R, IACOMINI M. Mushroom heteropolysaccharides: A review on their sources, structure and biological effects[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 136: 358-375.
- [12] 杜萍, 何双辉, 钱玺, 等. 落叶松锈迷孔菌产多糖液体培养基的优化及其体外抗氧化活性[J]. 菌物学报, 2019, 38(6): 951-969.
- [13] 张文隽, 吴亚召, 雷萍, 等. 桦树桑黄液体发酵培养基优化研究[J]. 中国食用菌, 2010, 29(6): 24-25.
- [14] 张沙沙, 陈莉, 丁克坚, 等. 桑黄液体培养基的筛选及培养条件优化[J]. 东北林业大学学报, 2013, 41(6): 76-79.
- [15] 李朔, 丁一新, 徐霁, 等. 桑黄胞内多糖液体发酵培养基的优化[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 236-240.
- [16] 赵媛, 米芳, 张鞍灵, 等. 褐多孔菌发酵培养基优化[J]. 西北农业学报, 2011, 20(2): 182-187.
- [17] 郭彩珍. 响应面法优化紫丁香愈伤组织诱导条件及防褐化研究[J]. 种子, 2021, 40(8): 141-145, 148.
- [18] 王艳, 陈勋, 李灿, 等. 基于响应面法优化白及原球茎液体培养基[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(2): 190-194.
- [19] 唐思煜, 赵悦萍, 吴迪, 等. 桑黄液体深层发酵培养基优化研究[J]. 浙江科技学院学报, 2018, 30(3): 193-198.
- [20] 钟石, 李有贵, 朱俭勋, 等. 优化培养基对桑黄菌丝体生长的影响[J]. 浙江农业科学, 2011(1): 173-175.
- [21] 李剑梅, 池景良, 谢存一, 等. 桑黄菌株 S-1 培养条件研究[J]. 北方园艺, 2021(23): 127-133.

Optimization of *Sanghuangporus vaninii* Liquid Culture Medium Based on Response Surface Methodology

TENG Cheng-long¹, LIU Di^{1,2,3}, YIN Yu-han¹, GUO Jian-feng¹, LIU Shuang¹, ZHANG Han¹, CHANG Yue³, LU Yuan-tian¹

(1. Agricultural College, Yanbian University, Yanji 133002, China; 2. Agricultural College, Yanbian University, Yanji 133002, China; 3. Fusion College, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: *Sanghuangporus vaninii*, a large-scale medicinal fungus, has a shortage of resources due to its long growth period and unreasonable development, and a large amount of mycelium can be obtained in a short time through liquid fermentation culture. In this experiment, the mycelial biomass was used as the main index to optimize the liquid medium of *Sanghuangporus vaninii*. Screening of carbon source, nitrogen source and inorganic salt in liquid medium of *Sanghuangporus vaninii* by response surface methodology. The results showed that the best carbon source of poplar mulberry was glucose. The best inorganic salt was $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, the most suitable medium formula was glucose $34.44 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, peptone $7.26 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, yeast extract $8.303 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $2.618 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ and natural pH, at this condition, the biomass yield of *Sanghuangporus vaninii* was the highest at 2.73305 g , which was basically consistent with the predicted value. It is concluded that the optimized liquid medium can significantly improve *Sanghuangporus vaninii* mycelial biomass.

Keywords: *Sanghuangporus vaninii*; liquid medium; response surface design; mycelium biomass

欢迎关注微信公众号

