

DOI:10.11937/bfyy.201712035

# 富硒香菇发酵液中硒多糖提取工艺的响应面优化

乔 伟<sup>1</sup>, 陈文强<sup>1,2</sup>, 彭 浩<sup>1,2</sup>, 解修超<sup>1,2</sup>, 邓百万<sup>1,2</sup>, 乔艳明<sup>1</sup>

(1. 陕西理工大学 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723000; 2. 陕西省食药用菌工程技术研究中心, 陕西 汉中 723001)

**摘要:**以香菇 9608# 菌株为试材, 在单因素试验基础上, 采用 Box-Behnken 响应面设计法优化香菇发酵液中硒多糖提取工艺。结果表明: 富硒香菇发酵液中提取工艺硒多糖最佳醇沉时间为 15.45 h、乙醇浓度 82.30%、pH 7.95。在此条件下, 富硒香菇发酵液中硒多糖产量达到 3.23 g·L<sup>-1</sup>, 香菇发酵液中硒多糖硒含量 87.67 μg·g<sup>-1</sup>。利用 Box-Behnken 响应面设计法得到的富硒香菇发酵液中硒多糖提取工艺参数, 可为工业化生产提供必要的技术支持。

**关键词:**香菇; 硒多糖; Box-Behnken 设计; 回归模型分析; 响应面分析

**中图分类号:**S 646.1<sup>+2</sup> **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)12-0157-06

香菇(*Lentinus edodes*)属香菇属担子菌门、层菌纲、伞菌目、侧耳科、香菇属, 是仅次于双孢菇的世界第二大食用菌<sup>[1]</sup>。又称花菇、香蕈、香信、香菌、冬菇。香菇子实体单生、丛生以及群生, 子实体中等大。随着现代医学和营养学不断深入的研究, 香菇的药用价值也不断被发掘。香菇中麦角甾醇含量很高, 对防治佝偻病有效; 香菇含有六大酶类的 40 多种酶, 可以纠正人体酶缺乏症; 香菇中脂肪所含的脂肪酸, 对人体降低血脂具有极大的益处。

香菇多糖是从香菇子实体中提取的有效活性成分, 也是香菇的主要有效成分。临床与药理研究表明, 香菇多糖具有抗病毒、抗肿瘤和刺激干扰素形成等作用。香菇多糖的免疫调节活性是其生物活性的重要基础<sup>[2]</sup>; 增加多糖溶解度有利于提高其生理活性; 中等相对分子质量多糖的活性超过过高的或过低的相对分子质量多糖; 可溶于热水的多糖被证实有抗肿瘤活性。孙亚红等<sup>[3]</sup>研究发现香菇多糖为局部治疗恶性心包积液的良好药物, 值得临幊上进一步应用。符耀华<sup>[4]</sup>研究表明, 糖尿病并发感染的患者在口服降糖药或注射胰岛素抑制血糖的同时, 应

用香菇多糖可改善机体全身状况, 增强机体免疫力, 从而使感染得到有效控制, 加快疾病的康复。

硒多糖分布于许多动植物和微生物体内, 尤其在植物体内存在硒多糖已得到证实。近年来, 硒多糖作为一种有机硒化合物, 兼有硒与多糖二者的活性, 是生物体将无机硒转化有机硒的有效方法之一。黄峙等<sup>[5]</sup>研究发现硒多糖的生物活性普遍高于多糖和硒, 更易于为机体吸收和利用, 崔乔等<sup>[6]</sup>研究发现硒多糖作为有机硒化合物, 具有抗肿瘤、抗氧化、清除自由基、调节免疫功能、抗病毒、降血糖、降血脂等多种生理活性, 是一种较好的生物补硒剂。

目前, 有关香菇菌株发酵液中提取胞外硒多糖的报道甚少, 响应面法用于优化富硒香菇发酵液中硒多糖提取工艺尚鲜见研究报道。该研究从香菇 9608# 菌株发酵液中提取胞外硒多糖, 采用单因素试验研究醇沉时间、乙醇浓度、pH 对香菇胞外硒多糖产量的影响, 并通过响应面分析法优化提取, 借助 Design-Expert 8.0.6 软件, 采用 Box-Behnken 模式对各主要影响因素之间的单一和交互作用等进行了研究, 得出最佳提取工艺参数, 为从发酵液中提取香菇硒多糖的工业化生产提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 香菇 9608# 菌株由陕西省食药用菌工程技术研究中心提供。

1.1.2 培养基 斜面 CPDA 培养基: 马铃薯 200.00 g、葡萄糖 20.00 g、琼脂 20.00 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.50 g、VB<sub>1</sub> 0.11 g、H<sub>2</sub>O 1.00 L, pH 自然。富

**第一作者简介:** 乔伟(1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向为微生物资源利用开发。E-mail: 838232966@qq.com

**责任作者:** 陈文强(1956-), 男, 教授, 硕士生导师, 现主要从事微生物资源保护与利用等研究工作。E-mail: wenqiangc@126.com

**基金项目:** 陕西省“13115”科技创新工程计划资助项目(2008ZDGC-04)。

**收稿日期:** 2017-02-07

硒驯化培养基:麦麸 64.56 g、酵母膏 10.00 g、麦芽糖 15.00 g、马铃薯 288.78 g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.80 g、 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  20.00 mg $\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.00 g、琼脂 15.00 g。富硒发酵培养基:麦麸 64.56 g、酵母膏 10.00 g、麦芽糖 15.00 g、马铃薯 288.78 g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.80 g、 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  20.00 mg $\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.00 g<sup>[7]</sup>。

1.1.3 主要仪器 SW-CJ-1F 超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司),LS-B50L 型高压蒸汽灭菌锅(上海医用核子仪器厂),TB-214 型电子分析天平(北京赛得利斯仪器系统有限公司),MDF-U32V 型超低温冷冻冰箱(日本三洋电器集团),Q/BKYY31-2000型电恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂),DB-1A 恒温电热板(广州越特科学仪器有限公司),SW-CJ-1F 型超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司),ZHWY-210 2C 型数显式恒温摇床(上海志成有限公司),Hitachi 650-105 荧光分光光度计(日本东京日光股份有限公司),SHB-III型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)。

## 1.2 试验方法

1.2.1 菌株活化 取 0.50 cm<sup>2</sup> 大小的香菇 9608# 在制备好的 CPDA 斜面培养基上,28 ℃ 培养至菌丝满管,4 ℃ 保藏备用。

1.2.2 富硒驯化培养 取 0.5 cm<sup>2</sup> 经活化的香菇 9608# 菌块 2 块,接入富硒驯化培养基,温度 28 ℃ 培养 6 d 至菌丝满管,4 ℃ 保藏备用。

1.2.3 发酵液制备 取 0.5 cm<sup>2</sup> 经富硒驯化后的香菇 9608# 菌块 2 块,接入发酵培养基(500 mL 三角瓶装 300 mL 发酵培养基),静置 24 h 后置于温度 28 ℃、160 r $\cdot\text{min}^{-1}$  摆床发酵 14 d,发酵液抽滤除去菌丝体,浓缩发酵液至原体积的 1/5,4 ℃ 冰箱保存备用。

1.2.4 富硒香菇发酵液中硒多糖提取的单因素试验 选取不同的醇沉时间、乙醇浓度、pH,研究其对硒多糖提取率的影响。1)醇沉时间:取浓缩液 10 mL,加入无水乙醇使醇沉浓度 80%,用 1 mol $\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 和 1 mol $\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH 调 pH 至 7.00,4 ℃ 冰箱放置。醇沉时间为 6、9、12、15、18、21 h,8 000 r $\cdot\text{min}^{-1}$  4 ℃ 离心 20 min,沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤 3 次,60 ℃ 烘干至恒重,计算硒多糖产量,选取香菇发酵液中硒多糖最高产量时为最佳醇沉时间。每处理 5 次重复,取平均值,下同。2)乙醇浓度:取浓缩液 10 mL,加入无水乙醇,乙醇浓度分别为 40%、50%、60%、70%、80%、90%,醇沉时间为上述最佳时间,其它同醇沉时间设置。选取香菇发酵液中硒多糖最高产量时为最佳浓度。3)pH:取浓缩液 10 mL,发酵液 pH 分别为 4、5、6、7、8、9,乙醇浓度和醇沉时

间为上述试验最佳结果,其它同乙醇浓度设置。选取富硒香菇发酵液中硒多糖最高产量时为最佳 pH。

## 1.2.5 香菇胞外硒多糖的提取工艺的响应面优化

在单因素试验基础上,以 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,分别选取醇沉时间( $X_1$ )、乙醇浓度( $X_2$ )、pH( $X_3$ )为考察对象,以香菇菌株富硒发酵液中硒多糖产量( $Y$ )为响应值,采用 3 因素 3 水平响应面分析法确定最佳提取工艺条件,试验因素水平编码见表 1。

表 1 3 因素 3 水平试验设计

Table 1 Variables and levels in the three-variable and three-level response surface design

水平 Level	因素 Factor		
	$X_1$ 醇沉时间 Ethanol precipitation time/h	$X_2$ 乙醇浓度 Ethanol concentration/%	$X_3$ pH
-1	12	70	7
0	15	80	8
1	18	90	9

1.2.6 香菇胞外硒多糖中硒含量检测 按照最佳提取工艺,提取香菇菌株富硒发酵液中硒多糖,将硒多糖用蒸馏水漂洗,自然风干,60 ℃ 烘干,粉碎过 40 目,装瓶,放置于干燥器内,备用。采用 2,3-二氨基萘荧光分光光度法测定硒含量,参照 GB 13105-91。

## 2 结果与分析

### 2.1 香菇胞外硒多糖产量单因素试验

2.1.1 醇沉时间对硒多糖产量的影响 图 1 表明,随着醇沉时间的增加,香菇发酵液中硒多糖产量逐渐增大。当醇沉时间为 15 h 时,富硒香菇发酵液中硒多糖产量为 2.72 g $\cdot\text{L}^{-1}$ 。当醇沉时间大于 15 h 时,富硒香菇发酵液中硒多糖产量增加缓慢并趋于稳定,增加醇沉时间,会降低提取效率。因此,富硒香菇发酵液中硒多糖最佳醇沉时间为 15 h。

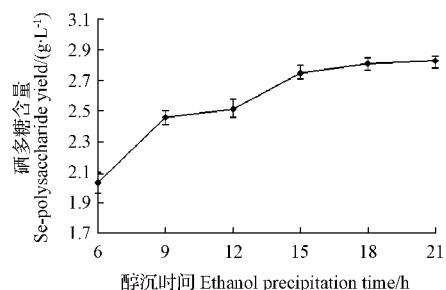


图 1 醇沉时间对硒多糖产量的影响

Fig. 1 Effect of ethanol precipitation time on Se-polysaccharide yield

2.1.2 乙醇浓度对硒多糖产量的影响 图2表明,随着乙醇浓度增大,硒多糖产量呈先增大后减小的趋势。当乙醇浓度为80%时,富硒香菇发酵液中硒多糖产量最大为 $3.11\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,当乙醇浓度大于80%时,富硒香菇发酵液中硒多糖产量趋于下降,增加乙醇浓度,会降低提取效率。因此,富硒香菇发酵液中硒多糖提取的最佳乙醇浓度为80%。

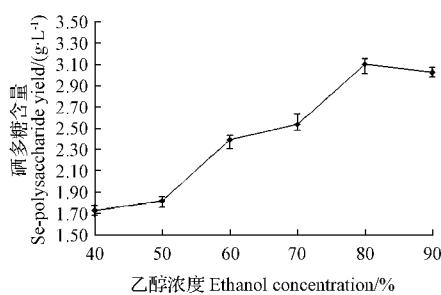


图2 乙醇浓度对硒多糖产量的影响

Fig. 2 Effect of ethanol concentration on Se-polysaccharide yield

表2

Box-Behnken 中心组合因素水平编码

Table 2

Independent variables and coded levels in Box-Behnken experimental design

试验编号 Experiment number	因素 Factor			Y 硒多糖产量 Se-polysaccharide yield/(g·L⁻¹)
	X <sub>1</sub> 醇沉时间 Ethanol precipitation time/h	X <sub>2</sub> 乙醇浓度 Ethanol concentration/%	X <sub>3</sub> pH	
1	12	70	8	2.89
2	18	70	8	2.79
3	12	90	8	2.87
4	18	90	8	2.98
5	12	80	7	2.76
6	18	80	7	3.05
7	12	80	9	2.85
8	18	80	9	2.69
9	15	70	7	2.86
10	15	90	7	2.79
11	15	70	9	2.78
12	15	90	9	3.01
13	15	80	8	3.15
14	15	80	8	3.01
15	15	80	8	3.11
16	15	80	8	3.11
17	15	80	8	3.12

以 $X_1$ 、 $X_2$  和  $X_3$  为响应变量,以 Y 为响应值对表2数据进行处理,得到回归方程(表3)方差分析表,利用 Design-Expert 8.0.6 软件进行非线性的二次多项式拟合,得到预测模型如下。

$$Y = -13.14750 + 0.56583X_1 + 0.073875X_2 + 2.22625X_3 + 1.75000E-003X_1X_2 - 0.037500X_1X_3 + 7.50000E-003X_2X_3 - 0.01333X_1^2 - 9.75000E-004X_2^2 - 0.14250X_3^2$$

2.1.3 pH 对硒多糖产量的影响 图3表明,随着pH 的增大,硒多糖产量呈先增大后减小的趋势。当pH 为8时,硒多糖产量最大为 $3.12\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,当pH 大于8时,富硒香菇发酵液中硒多糖产量趋于下降,增加pH,会降低提取效率。因此,富硒香菇发酵液中硒多糖提取的最佳pH 为8。

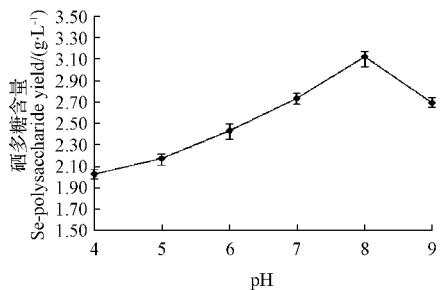


图3 pH 对硒多糖产量的影响

Fig. 3 Effect of pH on Se-polysaccharide yield

## 2.2 Box-Behnken 试验设计与分析

采用3因素3水平响应面分析法进行研究,考虑各因素间的交互作用以及各因素对多糖提取率的影响。试验结果见表2。

该模型对试验进行理论推断,回归方程系数进行显著性检验。表3表明, $X_1X_3$ 、 $X_2^2$ 项差异显著; $X_1^2$ 、 $X_3^2$ 项差异极显著, $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_1X_2$ 、 $X_2X_3$ 差异不显著。模型 P 值为 0.0086,可信度水平为 99.14%。因此,该模型有意义,拟合的二次回归方程合适。失拟项 P 值 0.1793 > 0.05,失拟项差异不显著,试验操作可信。另外,从 F 值可看出这 3 个因素对硒多糖产量的影响顺序依次是  $X_3 > X_1 > X_2$ ,即

表 3

回归分析

Table 3

Results of regression analysis

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
模型	0.310	9	0.034	7.08	0.008 6	**
$X_1$	2.450E-003	1	2.450E-003	0.50	0.500 7	
$X_2$	0.014	1	0.014	2.80	0.138 1	
$X_3$	2.113E-003	1	2.113E-003	0.43	0.530 8	
$X_1 X_2$	0.011	1	0.011	2.27	0.175 8	
$X_1 X_3$	0.051	1	0.051	10.42	0.014 5	*
$X_2 X_3$	0.023	1	0.023	4.63	0.068 5	
$X_1^2$	0.061	1	0.061	12.47	0.009 6	**
$X_2^2$	0.040	1	0.040	8.23	0.024 0	*
$X_3^2$	0.086	1	0.086	17.59	0.004 1	**
残差	0.034	7	4.861E-003			
失拟项	0.023	3	7.608E-003	2.72	0.179 3	
纯误差	0.011	4	2.800E-003			
总离差	0.340	16				
$R^2 = 0.901\ 0$		$R_{Adj}^2 = 0.773\ 7$				

注: \*\* 差异极显著( $P<0.01$ ); \* 差异显著( $P<0.05$ )。

Note: \*\* is very significant difference( $P<0.01$ ); \* is significant difference( $P<0.05$ )。

pH>醇沉时间>乙醇浓度。

### 2.3 响应面及等高值分析

利用回归方程分析结果绘制硒多糖产量随各因素变化的响应曲面图,由响应曲面图可知醇沉时间、乙醇浓度、pH 因素对硒多糖产量的影响(图 4~6)。每个响应曲面分别代表着 2 个独立因素之间的交互作用,另 1 个因素保持在 0 水平编码。

图 4 表明,醇沉时间和乙醇浓度的交互作用不显著。在一定醇沉时间条件下,随着乙醇浓度的增加硒多糖产量缓慢升高至平稳,然后略有下降。在一定乙醇浓度条件下,随着醇沉时间的增加硒多糖产量缓慢升高至平稳,然后略有下降。

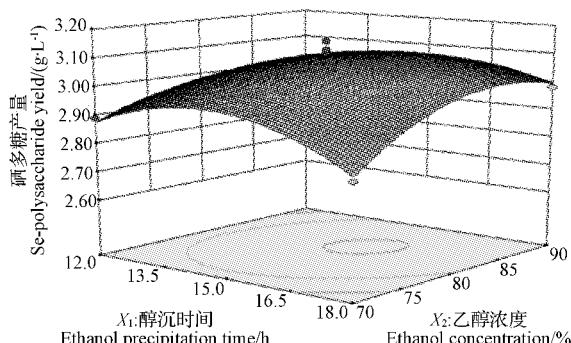


图 4 硒多糖产量在醇沉时间和乙醇浓度  
交互影响下的响应面

Fig. 4 Se-polysaccharide yield of  
the response surface in ethanol precipitation time and  
ethanol concentration

图 5 表明,醇沉时间和 pH 的交互作用显著。在低 pH 条件下随着醇沉时间的增加,硒多糖产量迅速升高至平稳,然后略有下降;在高 pH 条件下,随着醇沉时间的增加,硒多糖产量迅速升高至平稳,然后略有下降。在醇沉时间较短条件下,随着 pH 的增大,硒多糖产量缓慢升高至平稳,然后迅速下降;在醇沉时间较长条件下,随着 pH 的增大,硒多糖产量缓慢升高至平稳,然后迅速下降。

图 6 表明,乙醇浓度和 pH 的交互作用不显著。在低乙醇浓度条件下,随着 pH 的增加,硒多糖产量缓慢升高至平稳,然后迅速下降。在高乙醇浓度条件下,随着 pH 的增加,硒多糖产量缓慢升高至平稳,然后缓慢下降。随着乙醇浓度的增加,高 pH 条件下比低 pH 条件下硒多糖产量升高快、下降慢。

在 Design-Expert 8.0.6 软件的‘Criteria’选项中,选取  $X_1$ 、 $X_2$  和  $X_3$  的‘Goal’值均为‘in range’,Y 的‘Goal’值为‘maximize’,得到影响硒多糖产量的各因素最优值为醇沉时间 15.45 h、乙醇浓度 82.30%、pH 7.95。此时硒多糖产量的预测值为  $3.11\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 2.4 验证试验

为了检验该提取工艺的可靠性,采用上述最优提取条件进行验证性试验,得到硒多糖产量的验证值为  $3.23\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,在初始提取条件下硒多糖产量为  $1.82\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,优化后提高了  $1.41\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,相对误差约为 3.86%。该结果表明,利用 Box-Behnken 响应面法优化香菇 9608# 菌株富硒发酵液中硒多糖的提取工艺是有效可行的。

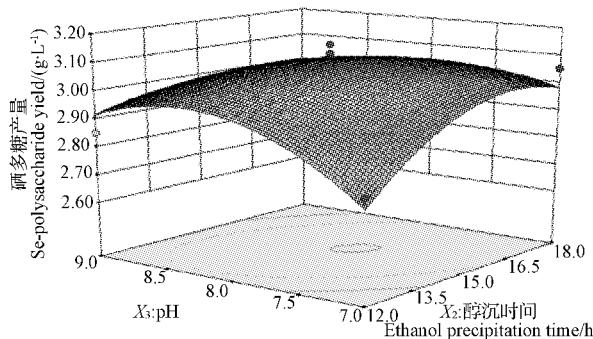


图 5 硒多糖产量在醇沉时间和 pH 交互影响下的响应面

Fig. 5 Selenium-polysaccharide yield of the response surface in ethanol precipitation time and pH

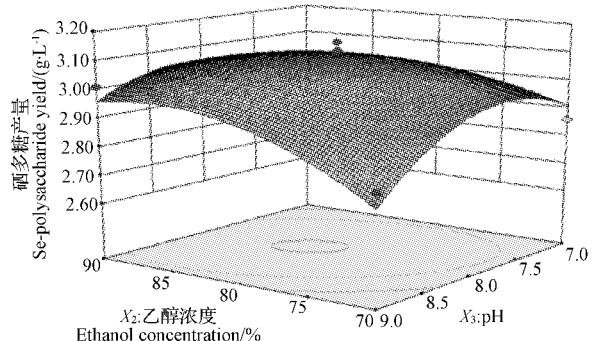


图 6 硒多糖产量在乙醇浓度和 pH 交互影响下的响应面

Fig. 6 Selenium-polysaccharide yield of the response surface in ethanol concentration and pH

## 2.5 硒多糖中的硒含量

由图 7 可知,采用 2,3-二氨基萘荧光分光光度法检测得到富硒发酵液中硒多糖中的硒含量为  $87.67 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

## 3 结论

通过单因素和 Box-Behnken 响应面试验得到香菇 9608# 菌株富硒发酵液中硒多糖的提取工艺为: 醇沉时间 15.45 h、乙醇浓度 82.30%、pH 7.95。在此工艺条件下,获得硒多糖的产量为  $3.23 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 香菇发酵液中硒多糖硒含量为  $87.67 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。目前,食用菌硒多糖的提取研究较多。吕国英等<sup>[8]</sup>、

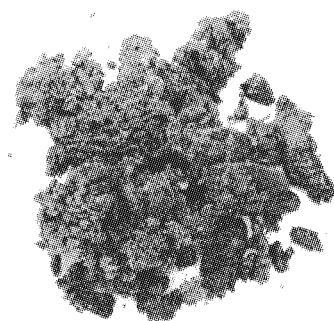


图 7 最优提取工艺参数条件下的硒多糖含量

Fig. 7 Se-polysaccharide content under the condition of optimum process parameters

赵俊杰<sup>[9]</sup>、陈文强等<sup>[10]</sup>研究的香菇发酵液中硒多糖产量分别为  $2.33$ 、 $2.58$ 、 $3.15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该试验研究得到香菇发酵液中硒多糖产量为  $3.23 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 与以往研究相比<sup>[8-10]</sup>, 分别提高了  $38.63\%$ 、 $25.20\%$ 、 $2.54\%$ 。利用 Box-Behnken 响应面法得到香菇菌株富硒发酵液中硒多糖的提取工艺参数准确可靠, 具有推广应用的价值, 可为工业化生产提供必要的技术支持。

## 参考文献

- [1] 刘春如. 香菇的分布概况及生物学特性[J]. 中国林副特产, 2001(4):32-33.
- [2] YU Z H, YIN L H, YANG Q, et al. Effect of *Lentinus edodes* polysaccharide on oxidative stress, immunity activity and oral ulceration of rats stimulated by phenol[J]. Carbohydr Polym, 2009, 75:115-118.
- [3] 孙亚红, 冯斌. 天地欣治疗恶性心包积液疗效观察[J]. 中国肿瘤, 2004, 4(13):259-260.
- [4] 符耀华. 天地欣对老年糖尿病合并感染的免疫调节作用[J]. 山西临床医学, 2002(11):282-283.
- [5] 黄峙, 郑文杰, 郭宝江. 含硒生物大分子化合物研究进展[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2001, 19(2):169-175.
- [6] 崔乔, 尚德静, 邹霞. 硒多糖的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24(3):155-157.
- [7] 乔艳明. 富硒条件下香菇液体培养基优化及硒多糖提取工艺[D]. 汉中: 陕西理工学院, 2016.
- [8] 吕国英, 张作法, 潘慧娟, 等. 响应面分析法优化香菇多糖发酵培养基[J]. 菌物学报, 2010, 29(1):106-112.
- [9] 赵俊杰. 香菇液体发酵及多糖提取工艺研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2014.
- [10] 陈文强, 乔艳明. 响应面法在香菇液体种生产工艺优化中的应用[J]. 食品工业科技, 2015, 36(18):290-294.

## Optimization of Extraction Process of Response From Selenium-polysaccharide Enriched *Lentinus edodes* in Fermentation Liquid Surface

QIAO Wei<sup>1</sup>, CHEN Wenqiang<sup>1,2</sup>, PENG Hao<sup>1,2</sup>, XIE Xiuchao<sup>1,2</sup>, DENG Baiwan<sup>1,2</sup>, QIAO Yanming<sup>1</sup>

(1. School of Biological Science and Engineering, Shaanxi Sci-tech University, Hanzhong, Shaanxi 723000; 2. Shaanxi Engineering Research Center of Edible and Medicated Fungi, Hanzhong, Shaanxi 723001)

# 不同丛枝菌根真菌对甘草生长和保护酶活性的影响

邹原东, 高琼, 毕红艳, 范继红

(北京农业职业学院 园艺系, 北京 102442)

**摘要:**以乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)为试材,研究5种AM真菌(*Acaulospora mellea*、*Glomus mosseae*、*Glomus versiforme*、*Glomus aggregatum*、*Glomus etunicatum*)对甘草生长及保护酶活性的影响。结果表明:接菌后的植株株高、地径、主根长、地上部分鲜质量、地下部分鲜质量、地上部分干质量、地下部分干质量和对照(不接菌的植株)相比增加明显。接菌植株的生长指标显著高于对照( $P<0.05$ ),超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性呈现先升高后下降的趋势,过氧化氢酶(CAT)活性呈现持续上升的趋势。不同接菌菌种对植株生长的影响差异明显。研究结果表明,接种*Glomus etunicatum*、*Glomus mosseae*、*Glomus aggregatum*对甘草的生长促进效果显著,在抵御外界不良环境方面优于其它菌种。

**关键词:**甘草; AM真菌; 生长; 保护酶

**中图分类号:**S 567.23<sup>+9</sup> **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2017)12—0162—05

丛枝菌根(Arbuscular mycorrhiza, AM)是一种较为常见的内生菌根,能够与植物根系形成共生,促进植物对营养物质的吸收,增强植物的抵抗力<sup>[1]</sup>。研究表明,丛枝菌根在抗性、抵御土壤污染、改良土壤及改善果实品质等方面研究广泛,应用前景较为广阔。丛枝菌根庞大的菌丝网会增大植物根系的吸

**第一作者简介:**邹原东(1980-),男,硕士,讲师,研究方向为植物栽培与生理生态。E-mail:zyyddd@163.com。

**责任作者:**范继红(1974-),女,博士,副教授,现主要从事生态学及菌根学等研究工作。E-mail:378185557@qq.com。

**基金项目:**北京市自然科学基金资助项目(6142005)。

**收稿日期:**2016—12—07

收面积,促进滇柏和楸树在干旱条件的水分吸收,还可以防止体内水分的丧失<sup>[2]</sup>。王丽萍等<sup>[3]</sup>研究发现丛枝菌根促进了玉米植株的生长和根系发育,而生物量的增加对石油污染土壤的修复效果明显。吴建新等<sup>[4]</sup>研究发现,丛枝菌根促进了根系的营养元素的吸收,提高了草莓的品质。该试验以乌拉尔甘草为研究对象,采用5种较为常见的AM真菌,通过接种后观察不同菌种对甘草生长的影响,筛选出华北区域内促进甘草生长和适应环境较为优良的菌种,以期为接下来的生产和大面积推广提供借鉴和参考依据。

**Abstract:**Based on the single factor experiment, the method of Box-Behnken response surface design was used to optimize the extraction process of selenium-polysaccharide in *Lentinus edodes* fermentation broth. The results showed that the optimum alcohol extraction time of selenium-polysaccharide was 15.45 hours, ethanol concentration 82.30% and pH 7.95. Under these conditions, the yield of selenium-polysaccharide in the fermentation broth of selenium-enriched *Lentinus edodes* was 3.23 g·L<sup>-1</sup>, and the selenium content of selenium-polysaccharide was 87.67 μg·g<sup>-1</sup>. Using the Box-Behnken response surface design method, the extraction parameters of selenium-polysaccharide from the selenium-enriched *Lentinus edodes* fermentation broth could provide the necessary technical support for the industrial production.

**Keywords:***Lentinus edodes*; selenium-polysaccharide; Box-Behnken design; regression model analysis; response surface analysis