

秦巴山区黑木耳液体种培养基的响应面优化

钱雪婷¹, 陈文强^{1,2}, 邓百万^{1,2}, 彭浩^{1,2}, 解修超^{1,2}, 陈琰¹

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

摘要:以秦巴山区黑木耳菌株‘神农 A8’为试材,在单因素试验的基础上,通过 Box-Behnken 设计对黑木耳液体种培养基进行响应面优化。结果表明:黑木耳液体种培养基最佳碳源、氮源分别是葡萄糖、牛肉粉,葡萄糖浓度、牛肉粉浓度以及 KH_2PO_4 浓度对菌丝生物量影响较大,优化得到黑木耳液体种培养基的配方是 2.16% 葡萄糖、0.48% 牛肉粉、15% 马铃薯、0.33% KH_2PO_4 、0.1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,菌丝生物量的预测值为 11.11 g/L,采用上述优化的黑木耳液体种培养基进行验证性试验,测得菌丝生物量为 11.37 g/L,与预测值的相对误差为 2.34%。因此,说明响应面法优化黑木耳液体种培养基是有效可行的。

关键词:黑木耳;菌丝生物量;液体种培养基;Box-Behnken 设计

中图分类号:S 646.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)18-0157-06

黑木耳(*Auricularia auricular*)属担子菌纲、木耳目、木耳科、木耳属,是一种非常珍贵且具有食用价值和药用功效的胶质真菌^[1]。其质地柔软,味道鲜美,有“素中之荤”及“菌中瑰宝”之美誉,是我国传统的出口商品之一^[2]。研究表明,黑木耳多糖具有抗凝血、降血脂、降血糖、抗血栓、抗氧化、止咳化痰、增强体液免疫等功能^[3-7]。近年来,随着人们生活水平的提高,黑木耳保健食品的开发和利用也越来越受到人们的重视^[8-10]。

食用菌液体种具有代谢旺盛、生产迅速、受季节限制小以及接种方便等优点^[11],与之前传统的食用菌生产方法相比,具有明显的优越性^[12]。目前,国内外对黑木耳资源的研究主要集中在改善黑木耳的栽培技术、黑木耳子实体中药用成分的分离纯化以及新品种的研发等方面^[13-16]。有关黑木耳液体种的研究报道甚少,谢意珍等^[17]采用正交实验对黑木耳菌株液体发酵培养条件进行优化试验,得到菌丝生物量为 26.50 g/L。矫天育等^[18]对“木耳 8 号”菌株液体发酵培养基营养成分进行优化试验,得到菌丝生物量为 6.8 g/L,迄今尚鲜见通过响应面法优化黑木耳液体种培养基的研究报道。

响应面法是一种寻找多因素系统中最佳条件的数学统计方法,通过建立连续变量曲面模型,对影响响应的因素水平及其交互作用进行优化与评比,从而可以快速有效地确定多因子系统的最佳条件^[19]。该研究以秦巴山区黑木耳菌丝生物量为响应值,在单因素试验的基础上,借助软件 Design Expert 8.0.6,采用 Box-Behnken 响应面试验设计法优化黑木耳液体种培养基,为黑木耳液体种的制备和利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试黑木耳菌株‘神农 A8’由陕西省食药菌工程技术研究中心提供;CPDA 培养基:20% 马铃薯,2% 葡萄糖,0.5% KH_2PO_4 ,0.3% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,0.001% 维生素 B_1 ,1.2% 琼脂,pH 自然,用于黑木耳菌种斜面培养。基础发酵培养基:20% 马铃薯,0.3% KH_2PO_4 ,0.1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,pH 自然。碳源筛选培养基:2% 供试碳源(葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、可溶性淀粉、红糖、玉米粉)+0.3% 蛋白胨+基础培养基。氮源筛选培养基:2% 葡萄糖+0.3% 供试氮源(牛肉粉、蛋白胨、酵母膏、黄豆粉、 KNO_3 、 NH_4NO_3 、尿素)+基础培养基。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株活化 配制 CPDA 培养基,接种黑木耳“神农 A8”菌株,28℃ 培养,待菌株满管后,4℃ 冰箱保藏备用。

1.2.2 摇瓶培养 取活化好的斜面菌种约 0.5 cm² 的小块,接种到液体摇瓶培养基中,250 mL 三角瓶装液量为 100 mL,160 r/min,28℃,恒温振荡培养 8 d,每处理 3 个平行试验。

第一作者简介:钱雪婷(1990-),女,陕西汉中,人,硕士研究生,现主要从事微生物资源利用开发等研究工作。E-mail:qianxueting163@163.com.

责任作者:陈文强(1956-),男,陕西汉中,人,教授,现主要从事微生物资源的保护与利用等研究工作。E-mail:wenqiangc@126.com.

基金项目:陕西省科学技术研究发展计划资助项目(2014K01-16-03);陕西省“13115”科技创新工程计划资助项目(2008ZDGC-04)。

收稿日期:2015-05-19

1.2.3 黑木耳液体种培养基单因素试验设计 1)碳源的筛选:在基础培养基中加入 2.0%的供试碳源及 0.3%的蛋白胨,比较菌丝生物量得率,筛选最佳碳源;2)氮源的筛选:在基础培养基中加入 2%的葡萄糖及 0.3%的供试氮源,比较菌丝生物量得率,筛选最佳氮源;3)培养基中各成分添加量对菌丝生物量得率的影响:根据前期试验,考察碳源浓度(1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%)、氮源浓度(0.02%、0.04%、0.06%、0.08%、0.10%)、马铃薯浓度(10%、15%、20%、25%、30%)、 KH_2PO_4 浓度(0.2%、0.3%、0.4%、0.5%)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 浓度(0.1%、0.2%、0.3%、0.4%)对黑木耳菌丝生物量得率的影响,初步确定培养基各成分的最佳浓度。

1.2.4 响应面法优化黑木耳液体种培养基 通过单因素试验,筛选出对黑木耳菌丝生物量有显著影响的因素,结合单因素试验结果,选取对菌丝生物量影响较大的葡萄糖浓度(X_1)、牛肉粉浓度(X_2)及 KH_2PO_4 浓度(X_3)作为响应面法的试验因素。以菌丝生物量作为指标,根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,考虑分析各因素之间的交互作用以及对菌丝生物量的影响,试验设计方案见表 1,对试验数据进行回归分析,得出最佳黑木耳液体种培养基配方。

表 1 Box-Behnken 试验因素及水平设计

Table 1 The factors and levels of Box-Behnken experiment design

因素	水平 Level		
Factor	-1	0	1
X_1 / %	1	2	3
X_2 / %	0.2	0.5	0.8
X_3 / %	0.2	0.3	0.4

1.3 项目测定

将液体条件下黑木耳菌丝体置于离心机中,4 000 r/min,离心 10 min,弃上清,去离子水洗沉淀 3 次,置于 85℃烘箱中干燥至恒重,即得菌丝生物量得率。

2 结果与分析

2.1 黑木耳液体种培养基成分的筛选

2.1.1 碳源的筛选 由图 1 可知,黑木耳菌株可以利用不同种类的碳源,且不同类型的碳源对菌丝生物量的影响较大。其中有机单一碳源对菌丝生物量的影响优于复合碳源,当以葡萄糖为碳源时,菌丝生物量得到最大值 8.25 g/L。因此,选用葡萄糖作为黑木耳液体种培养基碳源。

2.1.2 氮源的筛选 由图 2 可知,黑木耳菌株可以利用不同种类的氮源,且不同种类的氮源对菌丝生物量的影响较大。其中有机氮源对菌丝生物量的影响优于无机氮源,当以牛肉粉为氮源时,菌丝生物量得到最大值 10.27 g/L。因此,选用牛肉粉作为黑木耳液体种培养基氮源。

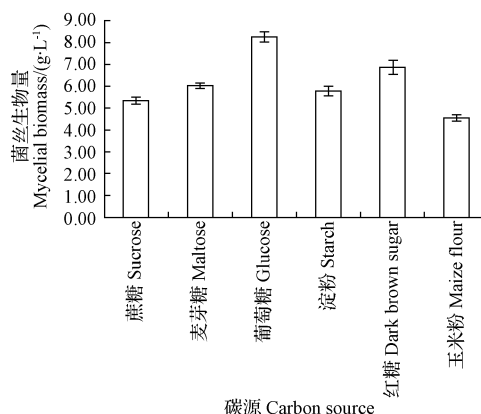


图 1 不同碳源对菌丝生物量的影响

Fig. 1 Effect of different carbon source on the mycelial biomass

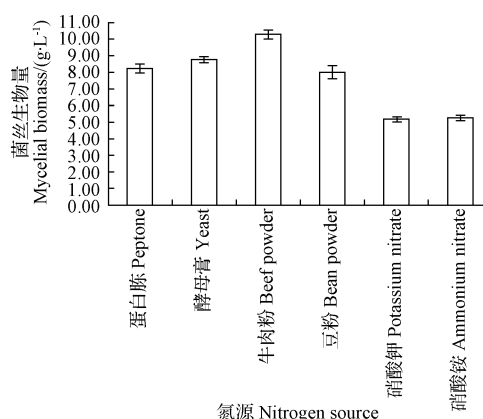


图 2 不同氮源对菌丝生物量的影响

Fig. 2 Effect of different nitrogen source on the mycelial biomass

2.2 黑木耳液体种培养基各成分添加量的单因素试验

2.2.1 葡萄糖浓度对菌丝生物量的影响 根据 2.1.1 碳源筛选结果,选用葡萄糖为液体种培养基碳源。由图 3 可知,不同浓度的葡萄糖对菌丝生物量的影响较大,随着葡萄糖浓度的增加,菌丝生物量呈先上升后下降的趋势,这说明过高的葡萄糖浓度反而不利于菌丝的转化。当葡萄糖浓度为 2.0%时,菌丝生物量达到最大值 9.07 g/L。因此,最佳葡萄糖浓度初步确定为 2.0%。

2.2.2 牛肉粉浓度对菌丝生物量的影响 根据 2.1.2 氮源筛选结果,选用牛肉粉为液体种培养基氮源。由图 4 可知,不同浓度的牛肉粉对菌丝生物量的影响较大,随着牛肉粉浓度的增加,菌丝生物量呈先上升后下降的趋势,这说明过高的牛肉粉浓度反而不利于菌丝的转化。当牛肉粉浓度为 0.4%时,菌丝生物量为 10.74 g/L,当牛肉粉浓度为 0.6%时,菌丝生物量为 10.52 g/L,菌丝生物量最大值在 0.4%~0.6%。因此,最佳牛肉粉浓度初步确定为 0.5%。

2.2.3 马铃薯浓度对菌丝生物量的影响 由图 5 可知,

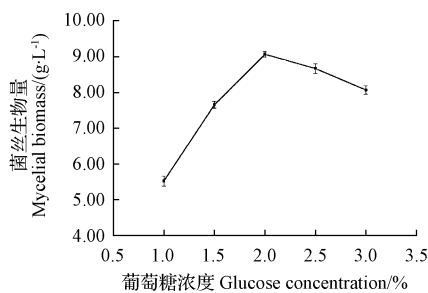


图3 葡萄糖浓度对菌丝生物量的影响
Fig. 3 Effect of different glucose concentration on the mycelial biomass

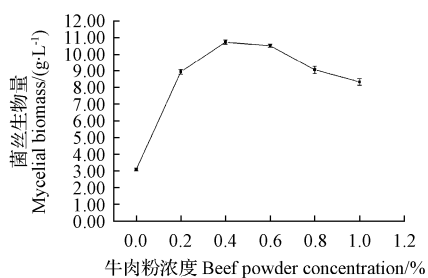


图4 牛肉粉浓度对菌丝生物量的影响
Fig. 4 Effect of different beef powder concentration on the mycelial biomass

不同浓度的马铃薯对菌丝生物量的影响不明显,当马铃薯浓度为10%时,菌丝生物量为8.49 g/L,当马铃薯浓度为15%时,菌丝生物量为9.48 g/L。当马铃薯浓度大于15%时,菌丝生物量会随着马铃薯浓度的增加而基本趋于稳定。综合考虑试验可行性以及经济条件,选取马铃薯浓度为15%。

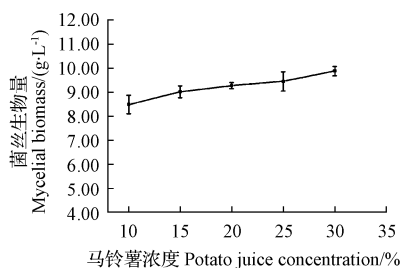


图5 马铃薯浓度对菌丝生物量的影响
Fig. 5 Effect of different potato juice concentration on the mycelial biomass

2.2.4 KH_2PO_4 浓度对菌丝生物量的影响 由图6可知,不同浓度的 KH_2PO_4 对菌丝生物量的影响较大,随着 KH_2PO_4 浓度的增加,菌丝生物量呈先上升后下降的趋势,这说明过高的 KH_2PO_4 浓度反而不利于菌丝的转化。当 KH_2PO_4 的浓度为0.3%时,菌丝生物量达到最大值10.85 g/L。因此,最佳 KH_2PO_4 的浓度初步确定为0.3%。

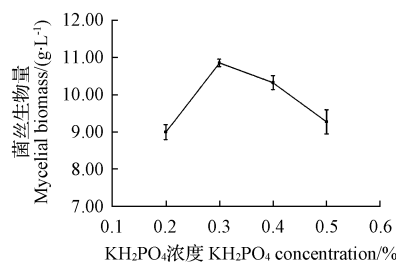


图6 KH_2PO_4 的浓度对菌丝生物量的影响
Fig. 6 Effect of different KH_2PO_4 concentration on the mycelial biomass

2.2.5 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 浓度对菌丝生物量的影响 由图7可知,不同浓度的 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 对菌丝生物量的影响不明显,菌丝生物量随着 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 浓度的增加而基本趋于稳定,综合考虑试验可行性以及经济条件,选取 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 浓度为0.1%。

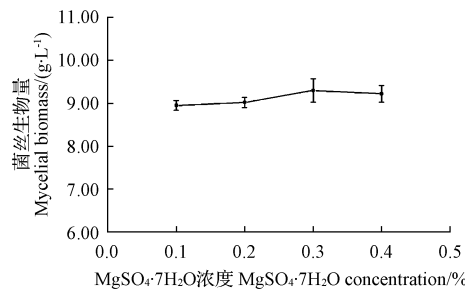


图7 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 浓度对菌丝生物量的影响
Fig. 7 Effect of different MgSO_4 concentration on the mycelial biomass

2.3 黑木耳液体发酵培养基的响应面法分析
2.3.1 模型建立 试验设计结果见表2。利用 Design 表2 Box-Benhnken 试验设计及响应值

Table 2 Box-Benhnken experiment design and its response				
试验号 Test number	水平 Level			菌丝生物量 Mycelial biomass/(g·L ⁻¹)
	X ₁ /%	X ₂ /%	X ₃ /%	
1	1	-1	0	9.22
2	0	-1	-1	7.01
3	-1	0	1	7.41
4	-1	1	0	6.55
5	0	0	0	11.11
6	0	1	1	8.79
7	-1	0	-1	6.36
8	0	0	0	10.46
9	0	0	0	10.93
10	1	1	0	5.84
11	0	0	0	11.27
12	1	0	-1	6.73
13	0	1	-1	7.03
14	0	-1	1	8.06
15	0	0	0	11.02
16	-1	-1	0	5.14
17	1	0	1	8.56

Expert 软件对表 2 中的 17 个试验点的响应值进行多元二次回归拟合分析,得出二次模型回归统计分析表,见表 3。得到回归方程预测模型如下: $Y=1.1+0.061X_1-0.015X_2+0.071X_3-0.12X_1X_2+0.02X_1X_3+0.018X_2X_3-0.24X_1^2-0.19X_2^2-0.13X_3^2$ 。由表 3 可知,该模型极显著($P<0.0001$),回归模型的 $R^2=0.9740$, $R_{Adj}^2=0.9405$,表明该模型的拟合度较好。该模型的失拟项 $P=0.0810$,影响不显著,表明所选模型适合,可以使用

表 3 二次回归统计分析

Table 3 Result of quadratic regression statistical analysis

方差来源	平方和	自由度	均方根误差	F 值	显著水平 P
Sources of variance	Square sum	df	Root mean square error	F value	Significant level P
模型 Model	0.65	9	0.072	29.09	<0.0001**
X_1	0.03	1	0.03	12.12	0.0102*
X_2	1.861×10^{-3}	1	1.861×10^{-3}	0.75	0.4139
X_3	0.04	1	0.04	16.41	0.0049**
X_1X_2	0.057	1	0.057	23.26	0.0019**
X_1X_3	1.521×10^{-3}	1	1.521×10^{-3}	0.62	0.4580
X_2X_3	1.260×10^{-3}	1	1.260×10^{-3}	0.51	0.4978
X_1^2	0.24	1	0.24	95.41	<0.0001**
X_2^2	0.15	1	0.15	62.06	0.0001**
X_3^2	0.074	1	0.074	30.16	0.0009**
残差 Residual	0.017	7	2.466×10^{-3}		
失拟项 Lack of fit	0.014	3	4.511×10^{-3}	4.84	0.0810
纯误差 Pure error	3.731×10^{-3}	4	9.327×10^{-4}		
总离差	0.66	16			
The total deviation					

注: $R^2=0.9740$; $R_{Adj}^2=0.9405$; * 为 $P<0.05$,差异显著; ** 为 $P<0.01$,差异极显著。

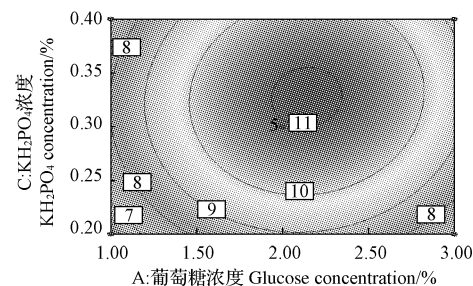
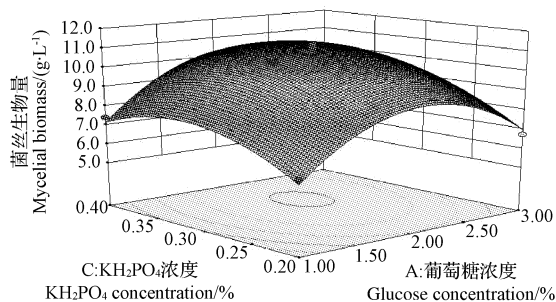
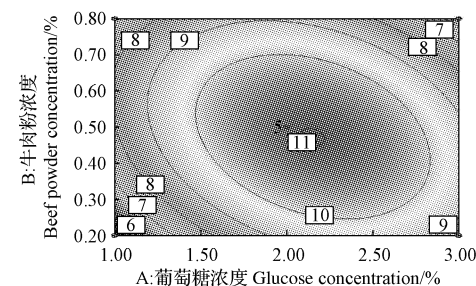
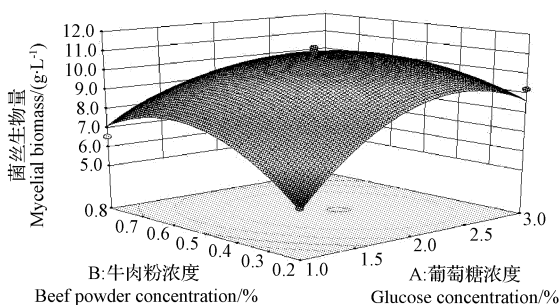
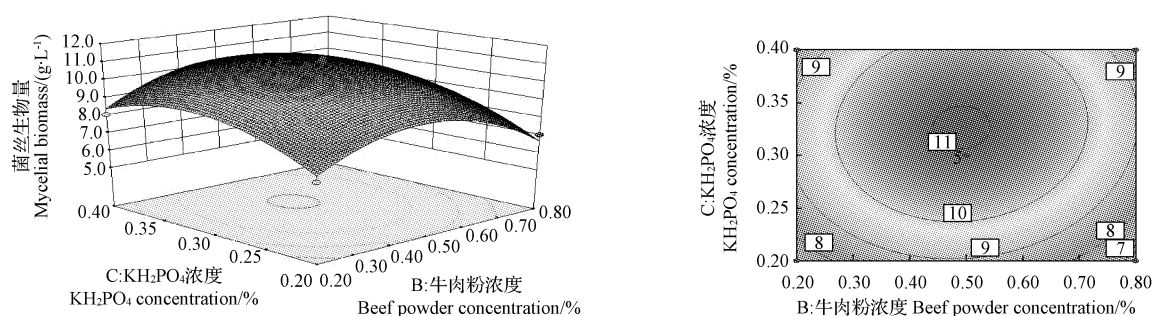
图 8 葡萄糖浓度(A)及 KH_2PO_4 浓度(C)对菌丝生物量影响的响应曲面和等高线图Fig. 8 Effect of glucose and KH_2PO_4 on mycelial biomass of the response surface and contour charts

图 9 葡萄糖浓度(A)及牛肉粉浓度(B)对菌丝生物量影响的响应曲面和等高线图

Fig. 9 Effect of glucose and beef powder on mycelial biomass of the response surface and contour charts

该模型来对试验进行理论推测。回归方程系数进行显著性检验, X_1^2 、 X_3 、 X_3^2 、 X_2^2 、 X_1X_2 对黑木耳液体种菌丝生物量有着极显著($P<0.01$)的影响; X_1 对菌丝生物量有显著($P<0.05$)的影响,其它变量对菌丝生物量的影响均不显著($P>0.05$)。依据 F 值可知,这 3 个因素的主效应关系为 KH_2PO_4 浓度>葡萄糖浓度>牛肉粉浓度。

2.3.2 响应面交互作用分析与优化 根据二次回归方程做出响应曲面和等高线,分析葡萄糖浓度、牛肉粉浓度、 KH_2PO_4 浓度以及各因素之间的交互作用对黑木耳液体种菌丝生物量的影响,结果见图 8~10。由图 8 可知,葡萄糖浓度和 KH_2PO_4 浓度的交互作用对菌丝生物量的影响不显著,当 KH_2PO_4 浓度一定时,随着葡萄糖浓度的增加,菌丝生物量会先增大后减小。由图 9 可知,葡萄糖浓度和牛肉粉浓度的交互作用显著,在低浓度牛肉粉的作用下,随着葡萄糖浓度的增大,菌丝生物量先迅速增大后缓慢减小;而在高浓度牛肉粉作用下,随着葡萄糖浓度的增大,菌丝生物量先缓慢增大后迅速减小。由图 10 可知, KH_2PO_4 浓度和牛肉粉浓度的交互作用不显著,当 KH_2PO_4 浓度一定时,随着牛肉粉浓度的增加,菌丝生物量会先增大后减小。利用 Design Expert 8.0.6 软件,分析得到黑木耳液体种最佳培养基配方是:2.16%葡萄糖、0.48%牛肉粉、15%马铃薯、0.33% KH_2PO_4 、0.1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,菌丝生物量预测值为 11.11 g/L。

图10 牛肉粉浓度(B)及 KH_2PO_4 浓度(C)对菌丝生物量影响的响应曲面和等高线Fig. 10 Mycelial biomass of the response surface and contour charts in beef powder and KH_2PO_4

2.3.3 回归模型的验证 采用上述最佳液体种培养基进行验证试验,测得黑木耳菌丝生物量为 11.37 g/L,与预测值的相对误差为 2.34%。结果表明,利用 Box-Behnken 响应面法优化黑木耳液体种培养基是有效可行的。

3 结论与讨论

培养基成分以及各成分的浓度是影响黑木耳菌丝转化率的重要因素,直接影响着菌丝生物量的大小。该研究以秦巴山区黑木耳液体种菌丝生物量为指标,首先,利用单因素试验筛选黑木耳液体种培养基成分,确定最佳碳源为葡萄糖,最佳氮源为牛肉粉。其次,对黑木耳液体种培养基各成分添加量进行单因素试验,分析确定葡萄糖浓度、牛肉粉浓度以及 KH_2PO_4 浓度对菌丝生物量的影响较大。最后,在此基础上通过 Box-Behnken 设计,优化得到黑木耳液体种培养基的配方是:2.16%葡萄糖、0.48%牛肉粉、15%马铃薯、0.33% KH_2PO_4 、0.1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,菌丝生物量的预测值为 11.11 g/L,采用上述优化的黑木耳液体种培养基进行验证性试验,测得菌丝生物量为 11.37 g/L,与预测值的相对误差为 2.34%。且经检验证明该模型合理可靠。

近年来,响应面法在优化食用菌液体种培养基方面得到了广泛的应用,潘辉等^[20]利用响应面法优化灰树花液体种培养基,菌丝生物量达到 49.25 g/L;赵迎庆等^[12]利用响应面法优化姬松茸液体发酵培养基,菌丝生物量达到 1.127 g/L。由于黑木耳菌种和培养条件等因素的差异,与现有报道相比^[17-18],该研究还有很大的提升空间,后续研究可对秦巴山区黑木耳液体种培养条件进行优化,以期进一步提高菌丝生物转化率,为黑木耳“神农A8”菌株的液体种生产和栽培提供理论参考。

参考文献

- [1] 王振宇,张宁,赵鑫. 酸溶性黑木耳多糖抗氧化性研究[J]. 中国林副特产, 2011(3): 4-6.
- [2] 吕作舟. 食用菌栽培学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [3] WU Q, TAN Z, LIU H, et al. Chemical characterization of *Auricularia*

auricular polysaccharides and its pharmacological effect on heart antioxidant enzyme activities and left ventricular function in aged mice[J]. Int J Biol Macromol, 2010, 46: 284-288.

[4] NGUYEN T L, WANG D, HU Y, et al. Immuno-enhancing activity of sulfated *Auricularia auricular* polysaccharides[J]. Carbohydr Polym, 2012, 89(4): 1117-1122.

[5] 樊一桥, 武谦虎, 盛健惠. 黑木耳多糖抗血栓作用的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2009, 30(6): 410-412.

[6] 刘军, 王昕. 黑木耳多糖的止咳化痰药理作用研究[J]. 实用药物与临床, 2015, 18(2): 186-188.

[7] 李德海, 史锦硕, 周聪, 等. 黑木耳多糖的制备及其抗凝血功能的研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(2): 283-285.

[8] 王磊, 边忠博, 陈宇飞. 黑木耳红枣复合饮料工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(23): 271-274.

[9] 崔东波. 紫苏叶海带木耳特色保健风味制品的研制[J]. 食品工业, 2013, 34(3): 106-108.

[10] 李颖跃, 王永宏. 黑木耳茶菌保健饮料的研制[J]. 食用菌, 2013(1): 57-58.

[11] 肖彩霞, 王玉红, 章克昌, 等. 黑木耳深层发酵工艺条件的研究[J]. 生物技术, 2004, 14(5): 70-72.

[12] 赵迎庆, 曹新志, 熊俐, 等. 响应面法在姬松茸液体发酵培养基优化中的应用[J]. 中国食品学报, 2014, 14(4): 120-126.

[13] 高金辉, 王维俭, 张厚良, 等. 四种木质栽培原料对黑木耳生长性状的影响[J]. 森林工程, 2015, 31(1): 43-45, 96.

[14] 赵超, 曾峰, 黄一帆, 等. Box-behnken 响应面设计法优化黑木耳菌质多糖提取工艺[J]. 生物技术通报, 2013(6): 188-193.

[15] 郑钧予, 丑建栋, 彭晓龙, 等. 复合酶法提取黑木耳多糖方法优化[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(3): 183-185, 199.

[16] 唐玉琴. 通过原生质体技术选育的黑木耳新品种“双高一号”品比研究[J]. 北方园艺, 2014(24): 153-154.

[17] 谢意珍, 周静文, 李崇. 黑木耳液体发酵条件的优化及发酵物的降血脂功能[J]. 食用菌学报, 2008, 15(2): 47-50.

[18] 矫天育. 黑木耳液体摇瓶培养基营养筛选[J]. 食用菌, 2010(4): 30-31.

[19] MONTGOMERY D C. Response surface methods and other approaches to process optimization, in design and analysis of experiments[M]. New York: John Wiley and Sons, 1997: 427, 510.

[20] 潘辉, 郭倩, 刘朝贵, 等. 响应面法优化灰树花液体种配方研究[J]. 上海农业学报, 2011, 27(2): 111-115.

DOI:10.11937/bfyy.201518043

甘肃甘南高海拔地区侧耳属 菌株生产性能评价 II

王 龙, 秦 鹏, 赵 玉 卉, 郭 瑞

(甘肃省科学院 生物研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘 要:以 5 个不同侧耳属菌株为研究对象,在其试管菌丝生长阶段,采用不同高低温处理培养,以期培养出耐高温、耐干燥的优良菌种,同时对比分析了同一菌株不同型在甘肃甘南高海拔地区的生产性能。结果表明:5 个不同侧耳属菌株(PG 型)在菌丝体生长阶段短时间内均能忍受 50℃ 左右的高温,经恢复生长后的 PGS 型菌株菌丝(变温培养后)较 PG 型菌株生命力更加旺盛;在当地高温栽培季节(每年 7—8 月),PGS 型菌株显示出了较强的耐高温和抗干燥的能力,其现蕾期和采收期较 PG 型菌株均至少提前 3 d,且子实体朵型紧凑,叶片肥厚,韧性较强;PGS 型菌株生物转化率比 PG 型菌株至少高出 5% 左右。

关键词:甘肃;高海拔地区;侧耳属;生产性能

中图分类号:S 646(242) **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)18-0162-04

食用菌的品种选育是依据其遗传原理并通过自然选种、杂交育种和诱变育种等方法改变其遗传物质,进

第一作者简介:王龙(1981-),男,甘肃兰州人,博士,助理研究员,现主要从事食用菌资源利用与开发等研究工作。E-mail: wanglong-0106@163.com.

责任作者:赵玉卉(1982-),女,甘肃武威人,硕士,助理研究员,现主要从事食用菌等研究工作。E-mail: yuhuizhao51@163.com.

基金项目:甘肃省科学院应用研究与开发资助项目(2012JK-04)。

收稿日期:2015-05-26

而培育出新品种的过程^[1]。自然选种是获得食用菌优良菌种较为简单且有效的方法之一。因为在自然界中,由于环境条件的不同,食用菌菌种的生长发育也随之改变,其生长特性必然趋向于为适应当地生态地理条件的新品种^[2]。同时,食用菌作为以收获子实体为主的高等真菌,其形态特征、培养特性、农艺性状等是其品系特性信息库的基础,也是菌种真实性检验、菌种纯度和菌种质量的关键指标^[3]。该试验在甘肃甘南高海拔地区,以 5 种不同侧耳属菌株为试验对象,对其试管菌丝生长

Optimization of Liquid Culture Mediums of *Auricularia auricular* Strain Collected From Qinba Mountains by Response Surface Methodology

QIAN Xueting¹, CHEN Wenqiang^{1,2}, DENG Baiwan^{1,2}, PENG Hao^{1,2}, XIE Xiuchao^{1,2}, CHEN Yan¹

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

Abstract: Taking *Auricularia auricular* 'Shennong A8' collected from Qinba Mountains as materials, on the base of single factor experiments, the liquid culture medium of *Auricularia auricular* strain was optimized by Box-Behnken design. The results showed that the best carbon source was glucose and the best nitrogen source was beef powder, and the concentration of glucose, beef powder and KH_2PO_4 were the influential parameters on the mycelial biomass. And the best liquid culture medium was achieved and listed as follows: 2.16% glucose, 0.48% beef powder, 15% potato, 0.33% KH_2PO_4 , 0.1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Under the optimal conditions, the mycelial biomass of *Auricularia auricular* was 11.37 g/L, compared with the theoretical value 11.11 g/L, the relative error was 2.34%. So the response surface method is effective and feasible for the optimization of liquid culture mediums of *Auricularia auricular* strain.

Keywords: *Auricularia auricular*; mycelial biomass; culture mediums; Box-Behnken design