

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2019.01.027

不同温度培养对香菇漆酶活性及转录表达的影响

陈小敏^{1,2}, 吴海冰¹, 向泉桔¹, 曾先富³, 张小平¹, 辜运富¹

(1. 四川农业大学资源学院, 成都 611130; 2. 绵阳市农业科学研究院食用菌研究所, 绵阳 621000;
3. 成都市农林科学院园艺研究所, 成都 611130)

摘要: 以香菇新 808 为材料, 研究不同温度培养下漆酶活性及其基因表达调控特征. 通过平板培养法测定 4 种温度(20℃、25℃、28℃和 30℃)对香菇菌丝圈及氧化圈的影响, 通过液体发酵测定漆酶活性, 并采用 qPCR 技术检测漆酶同工酶基因的相对表达量. 结果表明: 不同温度条件下, 漆酶的活性及转录表达存在明显差异. 25℃培养条件下香菇菌丝圈及氧化圈最大, 漆酶活性最强(114.11 U/mL); 而 30℃时的菌丝圈和氧化圈最小, 漆酶活性低(47.52 U/mL). 不同温度培养下漆酶同工酶基因出现差异性表达, 以 25℃为对照组, 20℃培养条件下 9 个漆酶基因(*Llac1-3*、*Llac5* 和 *Llac7-11*)表达量上调, 28℃处理下除 *Llac5* 和 *Llac7* 基因以外, 其余 8 个漆酶基因表达量发生上调, 而 30℃处理组 6 个漆酶基因(*Llac1-2*、*Llac4*、*Llac7-8* 和 *Llac10*)表达量下调. 表明 20℃处理下有助于漆酶基因的表达, 而 30℃处理下则抑制了其同工酶基因的表达.

关键词: 香菇; 漆酶基因家族; 相对表达量; 温度

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2019)01-0155-06

Effects of different temperature cultures on laccase activity and transcriptional expression of *Lentinus edodes*

CHEN Xiao-Min^{1,2}, WU Hai-Bing¹, XIANG Quan-Ju¹, ZENG Xian-Fu³,
ZHANG Xiao-Ping¹, GU Yun-Fu¹

(1. College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu, 611130, China;
2. Institute of Edible Fungi Research Institute of Agricultural Sciences, Mianyang City, Mianyang 621000, China;
3. Institute of Horticulture, Chengdu Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Chengdu 611130, China)

Abstract: The laccase activity and its gene expression regulation characteristics under different temperature cultures (20℃, 25℃, 28℃ and 30℃) were studied with the *Lentinus edodes* Xin808 to analyze the effect of its diameter of the mycelium ring and oxidation ring. The laccase activity was measured by liquid fermentation, and the relative expression level of lac was detected by qPCR technique. The results showed that, the growth rate of *Lentinus edode* mycelium, formation of oxidation ring, and laccase activity were all higher under 25℃ cultivation temperature. While 30℃ inhibited the growth of mycelium and the formation of oxidation ring and resulted into the lowest laccase activity. Moreover, the *Lac* genes exhibited differential expression profiles cultured in different temperature. Compared to the 25℃ (control), the relative expression level of 9 laccase genes (i. e. *Llac1-3*, *Llac5* and *Llac7-11*) were up-

收稿日期: 2017-11-29

基金项目: 四川省“十三五”育种攻关项目资助(2016NYZ0040)

作者简介: 陈小敏(1992-), 女, 四川什邡人, 硕士研究生, 研究方向为微生物资源及分子生物学. E-mail: cxm598435151@163.com

通讯作者: 辜运富. E-mail: guyf@sicau.edu.cn

regulated cultured at 20°C. Besides, the expression level of genes such as *Llac5*, *Llac7*, and the rest 8 laccase genes were up-regulated at 28°C. While 6 genes (including *Llac1-2*, *Llac4*, *Llac7-8* and *Llac10*) were down-regulated under 30°C treatment. It can promote *Llac* genes expression cultured at 20°C, while 30°C treatment inhibit the expression of the isozyme genes.

Keywords: *Lentinus edodes*; Laccase gene family; Relative expression level; Temperature

1 引言

木质素作为储量巨大的潜在绿色资源,在自然界中广泛存在,近年来对其综合利用越发受到重视,木质素降解不仅能够减少环境污染也能促进农业废弃物的利用效率^[1].因此木质素降解酶在土壤修复、环境保护等领域具有巨大的研究价值和应用潜力^[2].漆酶作为主要的木质素降解酶,通过 Cu^{2+} 催化氧化酚类化合物,使得酚类及木质素化合物裂解形成自由基,进一步解聚,达到降解木质素的目的^[3].漆酶具有重要的生物学功能和应用价值,近年来一直是环境保护、生物检测、造纸工业、食品工业等领域中的研究焦点.

对木质素的降解主要靠微生物来完成,白腐真菌作为最主要的木质素降解微生物,主要依靠其分泌木质素降解酶对其进行彻底的降解^[4,5].真菌漆酶的功能具有多样性,并且具有较高的氧化还原电势,在工业领域中有巨大的应用潜力^[6].香菇(*Lentinus edodes*)隶属于担子菌纲(*Basidiomycetes*),伞菇目(*Agaricaceae*),蘑菇科(*Lepiotaceae*),香菇属(*Lentinus*),是一种高蛋白、低脂肪、富含多糖、氨基酸和多种维生素的菌类食物,具有提高机体免疫力、降低血液中的胆固醇等多种疗效.同时香菇作为重要的木腐菌,具有较大的潜在漆酶产生能力,香菇菌丝生长时期,漆酶分泌旺盛,破坏木质素结构,使得更多的木质素纤维素暴露出来,为香菇菌丝体生长提供更多的碳源^[7].香菇新 808 作为大众主推秋栽品种,推广栽培面积大,子实体肉厚结实,菇大柄短,菇质较优且产量高,深受广大菇农的喜爱.该菌株生长速度快,菌龄 90~120 d,菌丝生长温度范围为 5~33 °C,出菇温度为 12~28 °C,最适温度为 20~28 °C.漆酶在食用菌生长发育过程中起重要作用,除了参与培养料中木质素的降解,还调控原基分化、子实体的形态建成和发育^[8].孙淑静等人研究 6 种不同食用菌品种产漆酶规律,发现产漆酶能力强的菌株其菌丝生长速度较快^[9].随着现代分子生物学的发展,香菇全基因组测序的完成^[10],包括漆酶在内的 14 个铜氧化物酶

编码基因被发现,研究者们着手从分子水平揭示香菇漆酶基因调控的分子机制.

真菌漆酶的表达受不同外界条件和因素的影响,影响漆酶合成和同工酶基因表达的主要因素有培养条件及培养基中的碳源、氮源、金属离子等^[11].营养物质、不同诱导剂对香菇漆酶的影响已经得到较深入的研究^[12].温度作为外界环境中的一个重要因子,可诱导或抑制食用菌生长发育等生命活动.郭勇等人研究表明温度影响食用菌的菌落及菌丝形态,适宜温度条件下,菌丝快速生长,长势好^[13].温度同样影响灵芝出芝过程中糖含量与木质素酶系、纤维素酶系等活性^[14].香菇属于变温结实食用菌,在香菇栽培过程中温度起到至关重要的作用.本试验通过研究不同温度培养条件下漆酶活性及其同工酶基因的相对表达量,分析不同温度对香菇菌丝漆酶活性及其同工酶基因转录水平的影响,以期优化香菇栽培、漆酶资源的开发利用和进一步明晰漆酶基因的分子调控机制提供理论参考.

2 材料与方法

2.1 材料

菌种:以中温偏高型,椴木和袋栽两用香菇品种新 808 为材料.本试验所用菌株从郫县香菇种植基地采集,挑选菇大圆整、品质好的子实体,通过组织分离后不断纯化得到的香菇菌种,由本实验室保存.

PDA 培养基配方:20%土豆、20%琼脂、2%葡萄糖、加水补足,121 °C 灭菌 30 min.通过加入 4% 愈创木酚测定漆酶氧化圈.

PDB 培养基配方:20%土豆、2%葡萄糖,加水补足,121 °C 灭菌 30 min.

2.2 方法

2.2.1 培养条件及菌丝和氧化带长度的测定 用打孔器取 1 块 4 × 4 cm 的新鲜固体培养物,接种于 PDA 平板中央,分别于 20 °C、25 °C、28 °C 和 30 °C 恒温培养箱中静置培养.每天测量菌丝圈和氧化圈半径直至长满整个培养皿,每个处理设置 3 个重复.

对于液体培养,取 3 块 4×4 cm 左右的新鲜固体培养物,接种于 50 mL PDB 液体培养基中,分别于 20°C 、 25°C 、 28°C 和 30°C 培养 30 d。

2.2.2 漆酶活性测定 分别第 15 和 30d 取样测定发酵液中的漆酶活性,每个处理重复 3 个。漆酶活性测定参考肖楚等人的方法进行^[15]。发酵液 4°C 离心(12000 r/min)10 min,上清液即为粗酶液。酶活反应体系为 3 mL,其中含 2.7 mL 0.1 mol/L 乙酸-乙酸钠缓冲液(pH=4.5),0.1 mL 粗酶液和 0.2 mL 的 0.5 mmol/L ABTS 溶液。 30°C 反应 3 min,测定 420 nm 处 OD 变化值。 30°C 每分钟氧化 1 μmol ABTS 所需的酶量为一个酶活力单位(U)。以煮沸灭活粗酶液为对照,每个样品重复 3 次。

2.2.3 总 RNA 提取及基因相对表达量 收集不同温度处理下生长 30 d 的香菇菌丝,液氮研磨,采用 Trizol 法提取 RNA^[16,17],1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性,按照 FastKount RT Kit 反转录试剂盒的步骤操作合成 cDNA。

qRT-PCR 在 Bio-rad 公司的 iQ5 荧光定量 PCR 仪上进行,基因的定量分析采取 SYBR green 法。qRT-PCR 反应体系为(20 μL): Green Master Mix(Vazyme)10 μL 、Forward 和 Reverse 引物各 100 nM、Rox Reference Dye 1 0.4 μL 、模板 cDNA 10 ng,加入 ddH₂O 补充至 20 μL 。反应程序为: 95°C 5 min, 95°C 10 s, 60°C 30 s,40 个循环。通过

溶解曲线分析引物的特异性,使用香菇 18S 基因作为内参基因,漆酶基因引物参照秦澎^[18] 等人设计的 10 个香菇漆酶同工酶基因引物。漆酶基因的相对表达量结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算,其中 ΔC_t 是待测基因与香菇 18S 基因 C_t 值的差异, $\Delta\Delta C_t$ 是样品 ΔC_t 值减去对照组 ΔC_t 值,同时对所得结果取相反数,最后对 $-\Delta\Delta C_t$ 进行 2 的幂运算,每个处理重复 3 次。

2.2.4 数据处理 实验数据使用 Excel 进行平均值和标准值计算,SPSS 进行统计分析。

3 结果与分析

3.1 温度对香菇菌丝生长的影响

将接种后的香菇菌饼放置不同的温度下培养,直至菌丝长满整个平板,不同温度处理下菌丝生长情况存在明显的差异(表 2、图 1)。接种 2d 后, 25°C 培养条件下的菌丝率先萌发,前期菌丝生长缓慢,随着培养时间的延长,菌丝进一步快速生长直至长满整个平板。四种培养温度下菌丝长满的时间分别为 18 d(20°C)、15 d(25°C)、17 d(28°C) 和 20 d(30°C),香菇菌丝平均生长速度为 0.23 cm/d(20°C),0.28 cm/d(25°C),0.25 cm/d(28°C) 和 0.21 cm/d(30°C)。菌丝圈大小测定结果显示, 25°C 培养条件下,香菇菌丝生长速度最快,其次是 28°C ,而 30°C 培养条件下,香菇菌丝生长最慢。

表 1 温度对香菇菌丝生长速度的影响

Tab. 1 Effects of mycelium growth on different temperature

温度($^{\circ}\text{C}$)	菌丝圈半径(cm)					
	5 d	10 d	12 d	15 d	16 d	18 d
20	1.03 ± 0.08	2.47 ± 0.01	3.80 ± 0.15	4.05 ± 0.19	4.20 ± 0.21	—
25	1.13 ± 0.12	3.43 ± 0.18	4.20 ± 0.23	—	—	—
28	1.05 ± 0.09	2.60 ± 0.12	3.90 ± 0.17	4.20 ± 0.20	—	—
30	0.90 ± 0.08	1.80 ± 0.10	3.00 ± 0.13	3.40 ± 0.14	3.90 ± 0.17	4.20 ± 0.19

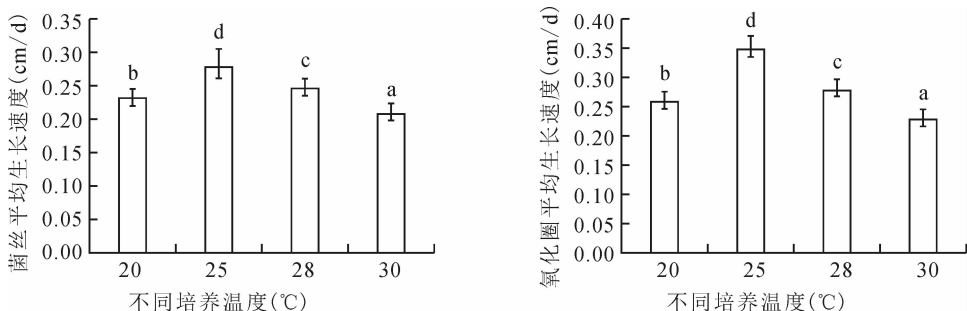


图 1 温度对香菇菌丝生长、漆酶氧化圈的影响

用 SPSS 软件进行显著性分析, * $P < 0.05$ ($n=3$)

Fig. 1 Effects of mycelium growth and laccase oxidation ring on different temperature
Significant analysis with SPSS software, * $P < 0.05$ ($n=3$)

3.2 温度对香菇氧化圈大小的影响

在 PDA 培养基中加入愈创木酚,将接种后的培养皿放置不同的温度下进行培养,香菇菌丝周围形成棕褐色轮环,随着时间的延长,香菇菌丝产生的氧化圈大小逐渐增大. 25℃ 培养条件下,氧化圈颜色较深,而 30℃ 培养条件下,氧化圈颜色较浅. 平板测定不同温度对氧化圈的形成产生了不同的

影响(表 3),不同温度培养条件下氧化圈遍布整个平板时间分别为 16 d(20℃)、12 d(25℃)、15 d(28℃)和 18 d(30℃). 如图 1 所示,不同温度培养条件下,氧化圈形成平均速度存在明显的差异,25℃ 培养条件下,氧化圈的形成速度最快,而 30℃ 培养条件下,氧化圈的形成速度最慢.

表 2 温度对香菇氧化圈大小的影响

Tab. 2 Effects of laccase oxidation ring on different temperature

温度(℃)	氧化圈半径(cm)					
	5 d	10 d	12 d	15 d	16 d	18 d
20	1.61±0.08	2.49±0.13	3.41±0.15	4.11±0.18	4.20±0.21	—
25	1.83±0.11	3.22±0.14	4.20±0.19	—	—	—
28	1.70±0.10	2.65±0.13	3.53±0.14	4.20±0.20	—	—
30	0.90±0.06	1.20±0.07	1.93±0.12	2.75±0.15	3.75±0.17	4.20±0.23

3.3 温度对漆酶活性的影响

将活化的香菇新 808 菌饼接种于 PDB 液体培养基,分别置于 20℃、25℃、28℃ 和 30℃ 条件下进行液体发酵培养. 结果如图 2 所示,不同温度培养 15 d 和 30 d 后,香菇漆酶活性存在明显的差异. 培养 15 d 后,香菇漆酶活性明显低于培养 30 d 的漆

酶活性. 在培养 30 d 漆酶活性中,25℃ 发酵条件下漆酶活性最高,为 123.51 U/mL,其次为 20℃ (114.11 U/mL). 30℃ 发酵条件下,漆酶活性最低,其酶活为 25℃ 漆酶活性的 0.38 倍. 由此可以看出,20℃ 和 25℃ 发酵条件下有助于提高香菇漆酶活性,而 30℃ 发酵条件下抑制了漆酶活性.

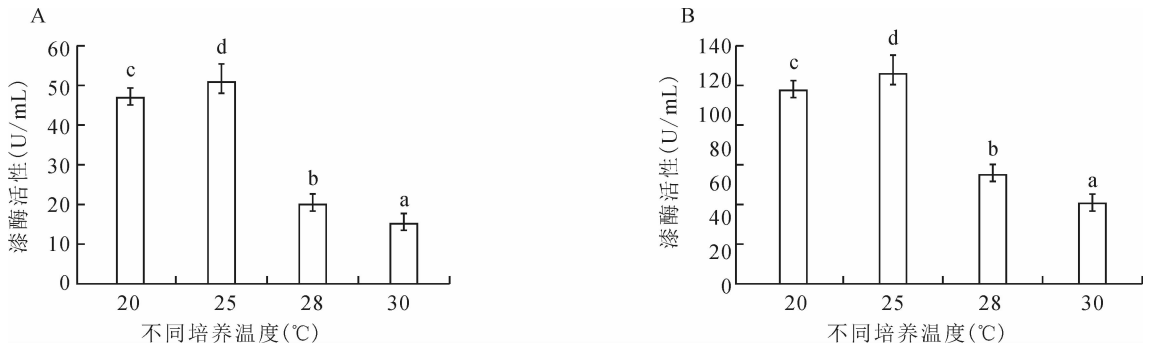


图 2 温度对漆酶活性的影响

A: 培养 15d 的漆酶活性; B: 培养 30d 的漆酶活性. 用 SPSS 软件进行显著性分析, * $P < 0.05$ ($n = 3$).

Fig. 2 Effects of laccase activity on different temperature

A: laccase activity cultured 15 days; B: laccase activity cultured 30 days. significant analysis with SPSS software. * $P < 0.05$ ($n = 3$).

3.4 温度对漆酶表达量的影响

为了进一步了解不同温度培养条件下,香菇漆酶基因在转录水平上的表达特征,采用实时荧光定量 PCR 分析了培养 30 d 样品中 10 个漆酶同工酶基因的相对表达量. 如图 3 所示,不同温度培养下香菇漆酶同工酶基因出现差异性表达.

以食用菌菌丝常规培养温度 25℃ 处理组为对照组,20℃ 培养条件下,除 *Llac4* 基因以外,其余 9 个漆酶基因的表达量均发生上调. 其中 *Llac2* 基因较对照组略微上调 1.12 倍,其余 8 个漆酶基因

(*Llac1*、*Llac3*、*Llac5* 和 *Llac7-11*) 表达量明显上调, *Llac5* 上调幅度最大,为对照组的 6.65 倍. 这表明 20℃ 处理下对香菇漆酶基因的表达有明显的促进作用. 28℃ 培养条件下,除 *Llac5* 和 *Llac7* 基因以外,其余 8 个漆酶基因表达量均明显上调. 其中, *Llac9* 上调幅度最大,其相对表达量是对照组的 5.12 倍. 30℃ 液体发酵条件对香菇菌丝漆酶基因的表达有明显的抑制作用,有 6 个漆酶基因 (*Llac1-2*、*Llac4*、*Llac7-8* 和 *Llac10*) 表达量明显下调,其中 *Llac7* 下调幅度最为明显,较对照下调 43.02 倍.

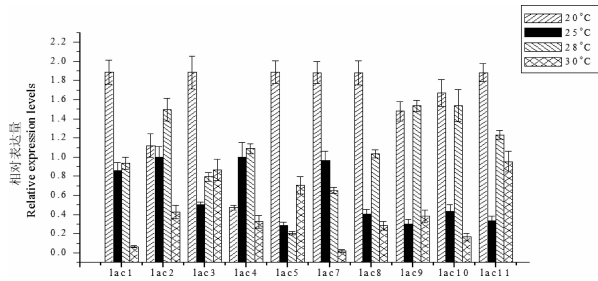


图 3 不同温度胁迫下 10 个漆酶基因的相对表达量
Fig. 3 Relative expression levels of Lac genes under different temperature

4 讨 论

漆酶的合成和分泌一般发生在菌丝生长的次级代谢阶段,受多种外界因素影响,具有多种应用价值.香菇属于变温结实食用菌,温度是制约香菇生长发育的重要环境因子,研究不同温度培养条件下漆酶活性及其基因表达调控特征对于优化香菇栽培、揭示香菇的漆酶分子调控表达机制具有重要意义.

黄书文等人研究不同培养温度(22℃、25℃和28℃)对香菇生殖生长的影响,结果表明菌丝最适培养温度为25℃^[19].在本研究中,25℃培养条件下同样促进了菌丝体的生长,而30℃培养条件下抑制生长,随着温度的增加,抑制作用也不断加强,这与栽培过程中香菇新808菌丝生长的最适温度为25℃的结果一致,表明此温度可能促进了菌丝体内某些相关代谢酶的活性或加速了某些生理生化反应,产生了大量代谢产物,从而促进了菌丝的生长.刘尚旭^[20]等人对糙皮侧耳菌木质素降解酶进行比较研究,发现菌丝生长与氧化圈有一定的联系.本研究中,温度对氧化圈的影响趋势与菌丝生长一致,即菌丝生长良好,氧化圈也较大.25℃培养条件下,菌丝生长最快,氧化圈最大;其次是28℃处理组,而30℃处理组,其菌丝生长最慢,氧化圈最小.

程科^[21]研究温度对白腐菌 *C. cinerea* 漆酶稳定性的影响,20℃条件下漆酶稳定性最高,随着温度的升高,漆酶的相对酶活有所下降.本研究香菇漆酶活性测定结果显示,20℃和25℃培养条件下,其发酵液漆酶活性较高,而30℃培养条件下,漆酶活性较低.漆酶活性的高低与菌丝生长趋势一致,表明高的漆酶活性,可以更好地分解基质,促进菌丝体的生长.万云洋^[22]等从漆树漆液中分离提纯得到两种漆酶的同工酶,两种同工酶均是低温酶,其最适温度分别为20℃和13℃.这表明在20℃左

右的温度条件下,促进了漆酶活性的表达,有助于提高漆酶活性.不同温度处理间漆酶活性测定结果与氧化圈测定结果表现不一致,这可能是由于氧化圈的形成除了有漆酶对愈创木酚的氧化作用,还有其它氧化酶(木质素过氧化物酶)氧化愈创木酚.

不同漆酶基因的表达受多方面因素的影响,如营养环境、培养条件和诱导物等.沈柯宇^[23]等研究重金属对灵芝漆酶转录表达的影响,结果表明4种重金属(Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Fe^{2+})离子胁迫下,15种灵芝漆酶基因出现差异性表达.对于香菇而言,在香菇的菌丝阶段,漆酶基因表达量较高,进入子实体发育阶段,其漆酶基因表达量迅速下降^[24],说明漆酶基因在香菇营养生长阶段发挥重要作用.这些研究表明漆酶基因的表达受到环境因素的影响,还参与真菌生长发育过程.本研究分析了香菇10个漆酶基因在不同温度培养条件下(20℃、25℃、28℃和30℃)的转录表达水平,初步揭示环境因子(温度)对香菇漆酶转录表达的影响.结果显示在20℃培养条件下,大部分漆酶基因的表达量较高;而30℃培养条件下,漆酶基因的转录水平均较低.漆酶同工酶基因对这些温度胁迫在转录水平上做出了响应,表明漆酶基因可能在香菇对温度的适应过程中发挥作用.秦澎^[18]等人分析了香菇15和香240这2株菌株漆酶同工酶转录表达水平,结果显示漆酶基因在不同菌株之间的转录表达存在差异性和特异性,其中 *Llac1* 在2株菌株中表达量均较高,而 *Llac8-9* 表达量则相对较低.本研究中, *Llac1*、*Llac8* 和 *Llac9* 在4种温度下的转录水平未出现均较高或较低的情况,表明虽然部分漆酶基因在不同菌株之间转录表达水平无明显差异,但在同一菌株中不同处理下几乎所有漆酶基因的转录表达水平均存在差异,这也可能是由于试验所用菌株引起的差异.漆酶同工酶基因转录表达与其酶活性之间不存在明显的相关性,这可能是由于培养温度促进或抑制了香菇漆酶同工酶基因的转录表达,但是否增加了漆酶在蛋白水平上的表达,还需进一步试验验证.

不同温度下,香菇菌丝生长情况以及漆酶活性存在较大差异,同时在转录水平上做出了响应.白腐菌降解木质素是一个十分复杂的生化过程.对木质素的降解,一定程度上还依赖其它木质素降解酶^[7].在后续的试验中,将进一步分析温度对香菇木质素降解酶的分子调控机理,以为优化香菇栽培和木质素降解酶资源的开发利用提供理论依据.

参考文献:

- [1] 王庆福, 黄清铨, 梁磊, 等. 灵芝木质素降解酶研究及其潜在应用进展[J]. 热带作物学报, 2015, 36: 1361.
- [2] 谭丽泉, 阮小文, 余梅, 等. 白腐真菌产木质素过氧化物酶影响因子的研究[J]. 工业安全与环保, 2014, 40: 58.
- [3] Calò F, Parise M. Waste management and problems of groundwater pollution in karst environments in the context of a post-conflict scenario: The case of Mostar (Bosnia Herzegovina)[J]. Habitat Inter, 2009, 33: 63.
- [4] Janusz G, Kucharzyk K H, Pawlik A, *et al.* Fungal laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase: Gene expression and regulation [J]. Enzym Microbial Technol, 2013, 52: 1.
- [5] Martínez A T, Speranza M, Ruiz-Dueñas F J, *et al.* Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin [J]. Inter Microbiol, 2005, 8: 195.
- [6] 刘忠川, 王刚刚. 真菌漆酶结构与功能研究进展[J]. 生物物理学报, 2013, 29: 629.
- [7] 茅文俊, 李燕, 周陈力, 等. 草菇漆酶基因在子实体形成过程中的表达分析 [J]. 食用菌学报, 2016, 23 :1.
- [8] 唐菊, 段传人, 黄友莹, 等. 白腐菌木质素降解酶及其在木质素降解过程中的相互作用 [J]. 生物技术通报, 2011 (10): 32.
- [9] 孙淑静, 郭艳艳, 吴晓华, 等. 不同食用菌品种产漆酶规律的研究 [J]. 中国食用菌, 2014, 33: 38.
- [10] Chen L, Gong Y, Cai Y, *et al.* Genome sequence of the edible cultivated mushroom *Lentinula edodes* (Shiitake) reveals insights into lignocellulose degradation [J]. Plos One, 2016, 11: 1.
- [11] 范芳芳. 白腐真菌漆酶基因表达调控及其功能研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.
- [12] Cavallazzi, Kasuya J R P, Soares C M, *et al.* Screening of inducers for laccase production by *Lentinula edodes* in liquid medium [J]. Brazil J Microbiol, 2005, 36: 383.
- [13] 郭勇, 叶小金, 甘炳成, 等. 不同温度和光照培养条件下 3 种食用菌菌丝的菌落及菌丝形态的研究 [J]. 西南农业学报, 2011, 24: 2301.
- [14] 魏巍, 余梦瑶, 许晓燕, 等. 出芝温度对灵芝基物质含量和酶活的影响 [J]. 中国生育健康杂志, 2016, 33: 49.
- [15] 肖楚. 黑木耳漆酶高产菌株筛选及发酵条件、酶学性质的研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.
- [16] Ren A, Li M J, Shi L, *et al.* Profiling and quantifying differential gene transcription provide insights into ganoderic acid biosynthesis in *ganoderma lucidum* in response to methyl jasmonate [J]. Plos One, 2013, 8: e650271.
- [17] 陈霞连, 杨华侨, 黎佳欣, 等. 美容杜鹃 RcHsfB3 基因的克隆及表达分析 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2017, 54: 405.
- [18] 秦澎, 辜运富, 曾先富, 等. 香菇漆酶高产菌株筛选及漆酶基因的表达研究 [J]. 菌物学报, 2017, 36: 1243
- [19] 黄书文, 刘爱和, 吴建雄. 不同培养温度与时间对香菇生殖生长的影响 [J]. 中国食用菌, 2014, 33: 65.
- [20] 刘尚旭, 董佳里, 张义正. 糙皮侧耳菌木质素降解酶的比较研究 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2000, 37: 594.
- [21] 程科. 白腐菌漆酶分离纯化、酶学性质及其对阿特拉津最适降解条件的研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.
- [22] 万云洋, 杜予民, 杨建红, 等. 漆树漆酶两种同工酶分离纯化与特性研究 [J]. 武汉大学学报: 理学版, 2003, 49: 201.
- [23] 沈柯宇, 张西蓓, 秦澎, 等. 4 种重金属对灵芝漆酶活性及转录表达的影响 [J]. 应用与环境生物学报, 2017, 23: 448.
- [24] Ohga S, Royse D J. Transcriptional regulation of laccase and cellulase genes during growth and fruiting of *Lentinula edodes* on supplemented sawdust. [J]. Fems Microbiol Letters, 2001, 201:111.

引用本文格式:

中文: 陈小敏, 吴海冰, 向泉桔, 等. 不同温度培养对香菇漆酶活性及转录表达的影响 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2019, 56: 155.

英文: Chen X M, Wu H B, Xiang Q J, *et al.* Effects of different temperature cultures on laccase activity and transcriptional expression of *Lentinula edodes* [J]. J Sichuan Univ; Nat Sci Ed, 2019, 56: 155.