

香菇菌丝后熟转色形成的活性氧作用与自噬特征

管婉^{1,2}, 储婷^{2,3}, 鲍大鹏², 张建^{1,2}, 李福后^{1*}, 唐利华^{1,2,3*}

1 江苏海洋大学食品科学与工程学院, 江苏 连云港 222005

2 上海市农业科学院食用菌研究所, 上海 201403

3 上海海洋大学食品学院, 上海 201306

摘要: 为了解活性氧(reactive oxygen species, ROS)在香菇菌丝后熟转色形成中的作用及其自噬细胞学特征, 以香菇工厂化菌株 KS11 为研究材料, 分析其在菌丝后熟转色过程中 4 个时间点(30、45、60、75 d)的活性氧含量(ROS)、丙二醛(MDA)含量、NADPH 氧化酶浓度、抗氧化酶活性以及外源活性氧和 DPI 对其影响的表型试验, 利用透射电镜观察该过程菌丝细胞自噬特征变化, 并运用实时荧光定量 PCR 对自噬基因 Atg8 的表达水平进行比较分析。结果表明: (1) H₂O₂ 作为主要的活性氧因子在菌丝后熟转色形成中呈现显著动态变化, 后熟转色过程中不断升高, 并在转色中第 60 天呈峰值。(2) NADPH 氧化酶浓度与 H₂O₂ 含量变化呈紧密正相关。(3) 外源施加一定浓度 H₂O₂ 显著促进香菇菌丝后熟转色, 且 DPI 作为 NADPH 氧化酶抑制剂显著抑制了香菇菌丝后熟转色的发生。(4) 香菇菌丝后熟转色过程中, 细胞自噬特征逐渐增强, 并在转色中后期最显著。上述结果表明以 H₂O₂ 为主的活性氧在香菇菌丝后熟转色过程中起重要作用, 并且可能参与了香菇菌丝后熟转色过程中的自噬进程。

关键词: 香菇; 后熟转色; 活性氧; 自噬; 实时荧光定量 PCR

[引用本文] 管婉, 储婷, 鲍大鹏, 张建, 李福后, 唐利华, 2022. 香菇菌丝后熟转色形成的活性氧作用与自噬特征. 菌物学报, 41(1): 88-97

Guan W, Chu T, Bao DP, Zhang J, Li FH, Tang LH, 2022. Effects of reactive oxygen species and autophagy characteristics of *Lentinula edodes* during postripeness of mycelia. Mycosystema, 41(1): 88-97

基金项目: 上海自然科学基金(19ZR1446500)

Supported by Natural Science Foundation of Shanghai (19ZR1446500).

*Corresponding authors. E-mail: lhtang2007@163.com, lifuhou2002@163.com

ORCID: GUAN Wan (0000-0002-6125-9804)

Received: 2021-05-06, accepted: 2021-08-06

Effects of reactive oxygen species and autophagy characteristics of *Lentinula edodes* during postripeness of mycelia

GUAN Wan^{1,2}, CHU Ting^{2,3}, BAO Dapeng², ZHANG Jian^{1,2}, LI Fuhou^{1*}, TANG Lihua^{1,2,3*}

1 School of Food Science and Engineering, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, Jiangsu, China

2 Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China

3 College of Food Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: In order to understand the role of reactive oxygen species (ROS) and autophagy cytological characteristics during brown film (BF) formation and postripeness of mycelium in *Lentinula edodes*, the content of reactive oxygen species (ROS), MDA content, and the concentration of NADPH oxidase at four time points (d30, d45, d60, d75) were analyzed. The activity of antioxidant enzymes, the phenotype of exogenous reactive oxygen species, and DPI were tested and the autophagy characteristics were analyzed by transmission electron microscopy. The expression level of autophagy gene Atg8 was compared and analyzed by real-time fluorescence quantitative PCR. The results showed that H₂O₂ as the main reactive oxygen species showed dynamic changes in BF formation and postripeness process, and increased continuously and reached high peak value in 60 days during postripeness and BF formation. The concentration of NADPH oxidase was closely related to the change of H₂O₂ content. The application of H₂O₂ could promote significantly the BF formation and ripeness of mycelium, and DPI as NADPH oxidase inhibitor could significantly inhibit the postripeness and BF formation. The autophagy characteristics was enhanced gradually during BF formation and postripeness process, and showed most significant in the middle and late stage. The results proved that H₂O₂ played an important role in the process of postripeness and BF formation, and it might be involved in the autophagy process during BF formation and postripeness in *Lentinula edodes*.

Keywords: *Lentinula edodes*; postripeness color changes; reactive oxygen species; autophagy; quantitative real-time PCR

香菇 *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, 起源于中国, 又被称为“国菇”, 其风味独特且营养丰富, 能够补充蛋白质、精氨酸、赖氨酸等多种人体所需的营养物质, 同时还能够帮助人体防病抗病, 有利于人体的健康(Baba *et al.* 2015; Kaur *et al.* 2016; Ren *et al.* 2018; Wu *et al.* 2019; 李巧珍等 2021)。在生产栽培过程中, 香菇菌丝后熟转色是其菌丝发菌完成后的重要生理成熟过程, 是原基发生前重要阶段, 也是影响香菇产量、品质以及生产周期的重要因素, 是菌丝由营养生长转向生殖生长的重要过程(杨春华等 2010; Tang *et al.* 2013; 于海龙等 2016)。此外, 正常

的香菇菌丝转色可以有效避免杂菌污染, 保持菌棒水分, 从而对菌棒起到保护作用(庞杰等 2016; Tang *et al.* 2016; 宋莹等 2020; 竹玮等 2020)。

活性氧(ROS)是指含有氧元素且 O₂ 较活泼的自由基或非自由基的统称, 主要包括过氧化氢(H₂O₂)、超氧阴离子(O₂⁻)等(王阳等 2020), ROS 形成的细胞器主要包括线粒体、叶绿体, 还有位于细胞质膜上的 NADPH 氧化酶(邓本良 2020)。活性氧粒子十分微小且活跃, 外界环境因子对生物体 ROS 的产生有重要影响, 已有研究表明, 外源添加硫化氢对桑黄菌丝中活

性氧有显著影响(姚雨辰等 2020);热胁迫可以使双孢蘑菇积累更多活性氧,从而对菌丝造成损伤(郝海波等 2021);高温胁迫能使糙皮侧耳菌丝的MDA含量及抗氧化酶活性显著升高(戚元成等 2012)。另外,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等酶法是目前主要的生物体内抗氧化酶保护系统(Karuppanapandian *et al.* 2011),香菇的CAT、POD、SOD活性能够在不同的温度调控下发生显著变化,同时对香菇菌丝生长产生较大影响(黄俊丽等 2011)。

自噬(autophagy)是将细胞内损坏、衰老、死亡的细胞器分解掉的过程,是一种十分重要的生物学现象(Tang *et al.* 2010)。研究表明自噬在丝状真菌细胞凋亡中有显著影响(厉晓东等 2011),Atg (AuTophagy)被用来代表自噬基因及其相对应的蛋白质,Atg8调控自噬体形成过程中自噬泡的延伸(闫思源和姜学军 2015),转色后的香菇菌丝Atg8表达量比转色前高,说明自噬参与香菇转色过程(房丽丽等 2017)。同时,活性氧在细胞自噬过程中起到十分重要的作用(Wang *et al.* 2009),如活性氧可以诱导自噬产生(Lisanti *et al.* 2010),以及在蛹虫草退化菌株中细胞自噬相关基因Atg18、Atg22等表达量呈显著上升趋势(周思池等 2019),自噬的激活也会加剧活性氧的累积(尤寿江等 2011)。当前关于活性氧和自噬在食用菌生长发育过程中的研究相对较少,两者之间的相互关系与作用机理更是鲜有报道,因此研究香菇后熟转色期间活性氧作用及自噬特征,对于理解香菇后熟转色的生长发育和代谢调控机制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 材料

香菇菌株KS11,培养菌袋于2020年10月

购自上海诚营农业发展有限公司(上海浦东),菌袋制作所需原材料均由上海国森生物科技有限公司提供。

1.1.2 试剂

DEPC (Sigma);氯仿、异丙醇、无水乙醇(上海化学试剂公司);RT试剂、荧光定量PCR试剂、sybr green I (ShineGene);DMSO、DPI、2.5%的戊二醛磷酸缓冲液(GA)、30% H₂O₂,购于国药集团化学试剂有限公司;H₂O₂、MDA含量检测试剂盒,SOD、CAT、POD活性检测试剂盒均购于北京索莱宝科技有限公司;NADPH氧化酶浓度ELISA试剂盒购于北京欣生科技有限公司。

1.1.3 主要仪器

5418R 冷冻离心机(Eppendorf公司);HC110-PRO 恒温金属浴(大龙兴创实验仪器股份公司);KMC-1300V 漩涡混合器(Biocex公司);UV-1800 分光光度计(岛津企业管理有限公司);ECAN Infinite 200 Pro 多功能酶标仪(瑞士TECAN公司);DW-86L626 超低温冰箱(Haier公司);FTC3000 (Canada)荧光定量PCR仪;HP-2132 精密色差仪(苏州美方机电有限公司)。

1.2 样品处理

香菇菌株KS11培养配方为杂木屑79%、麸皮20%、石膏1%,经加湿软化后搅拌均匀,4 h后检测含水量及pH,含水量范围为55%–58%、pH 6.5左右,装袋121℃灭菌4 h后冷却至常温再接种,接完种后的菌袋适宜温度范围为20–22℃,适宜的CO₂浓度为3 000–4 000 r/min,经30 d左右菌丝长满后给予菌袋光线照射,再经90 d左右转色完成后,将同批次的香菇KS11菌包按后熟转色过程不同时间点分为4个阶段:30、45、60、75 d,其中30 d是菌包菌丝长满时间点,是菌包菌丝后熟转色起点,45、60和75 d分别是菌包后熟菌丝转色初期、中期及后期。取样时分别从每个时间段的25个菌包里随机取6包,破袋切割表层后迅速揉碎混匀

并用液氮速冻，做好标记贮藏于-80 ℃超低温冰箱中待测。

1.3 外源施加试验

在香菇菌包的白色菌丝长满后，选取同一时间点的外观一致无污染菌包在菇房进行破袋及外源处理，将其分为实验组和对照组，实验组分为 H₂O₂ 和 DPI 两个处理，即活性氧促进剂与抑制剂，分别在菌丝长满后 0、7、14 d 喷施外源 100 mmol/L 的 H₂O₂ 和 20 μmol/L 的 DPI，对照组同时设外源等量蒸馏水，每日观察菌包表型变化，于 15、35 d 分别对菌包表型发生显著变化的 H₂O₂ 和 DPI 外源处理组和对照组进行拍照记录，同时使用色差仪在每个试验菌包的表层四周随机取 10 个均匀散布的点测量色差值 L，最后切割菌包表层并迅速揉碎混匀液氮速冻，做好标记贮藏于-80 ℃超低温冰箱中。

1.4 透射电镜的自噬分析

对香菇 KS11 菌包后熟转色 4 个时间点分别进行表层菌丝菌皮取样标记，用 2.5%的戊二醛磷酸缓冲液(GA)迅速固定后，送往武汉纽泰斯生物科技有限公司利用透射电镜(TEM)分析细胞自噬结构特征。

1.5 荧光定量 PCR 检测自噬相关基因 Atg8 的表达情况

为进一步分析香菇菌丝后熟转色不同时期自噬情况，取香菇菌丝后熟转色 30、60 d 的样本，每个样本设 3 个重复，先将 RNA 反转录成 cDNA，然后设计特异性的引物(表 1)和 sybr green I 荧光染料进行荧光定量 PCR 检测。荧光定量 PCR 反应体系的配置(总体积 50 μL)：2×PCR 缓冲液 25 μL，引物(25 pmol/μL) 1 μL×2，cDNA 2 μL，DEPC 水 20.5 μL。荧光定量 PCR 扩增条件：95 ℃预变性 5 min；95 ℃变性 20 s，59 ℃退火 20 s，72 ℃延伸 25 s，35 个循环；94 ℃90 s，60 ℃3 min，72 ℃检测信号。采用 2^{-ΔΔCt} 法分析香菇菌丝后熟转色不同时期自噬相关基因 Atg8 的相对表达量。

表 1 本研究中使用的引物

编号	引物	引物序列
Number	Primer name	Primer sequence (5'→3')
1	le02411t1-	TCTTGACCACCACCACT
	RTPCR-2F	ACATACT
2	le02411t1-	GGGTGCTCGTCCTTGAAC
	RTPCR-2R	TTTGA

1.6 数据分析

试验数据使用 SPSS 软件进行 ANOVA 统计分析和 Pearson 相关分析。数据结果以平均数±标准差表示，每个试验 3 个重复，统计显著性水平设定为 P<0.05。

2 结果与分析

2.1 H₂O₂ 含量的动态变化特点

H₂O₂ 作为主要的活性氧，在香菇菌丝后熟转色期间，随着香菇菌丝后熟转色时间的增长，H₂O₂ 含量逐渐增大，并在后熟转色中期(60 d)达到最大值 5.158 2 μmol/g，随后下降，试验结果表明 H₂O₂ 含量对香菇菌丝后熟转色有显著影响(图 1)。

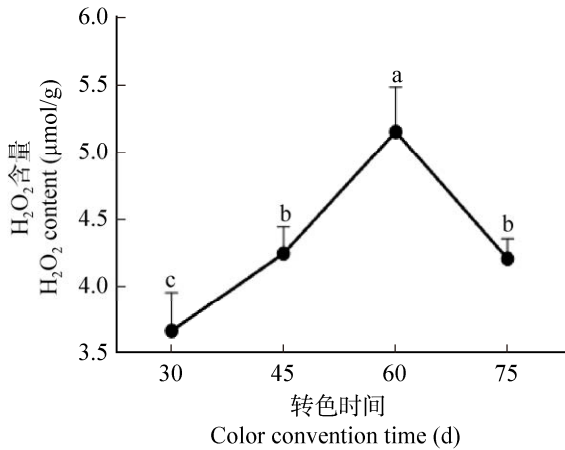


图 1 香菇后熟转色期间 H₂O₂ 含量的变化 出现在纵列上的字母表示显著差异(P<0.05). 下同
Fig. 1 H₂O₂ content in *Lentinula edodes* during postripeness color change of mycelia. The letters above the column showed significant difference (P<0.05). The same below.

2.2 NADPH 氧化酶浓度的变化

NADPH 氧化酶是活性氧的主要来源之一 (Smirnov & Arnaud 2019), 随着香菇菌丝后熟转色时间的增长, NADPH 氧化酶活性逐渐增加, 在后熟转色中期(60 d)达到最大值 2 311 mU/L, 随后下降, 其与 H_2O_2 含量变化趋势呈极显著相关(r 值为 0.898**), 表明 NADPH 氧化酶浓度对香菇菌丝后熟转色期间的 H_2O_2 含量有着十分重要的影响(图 2)。

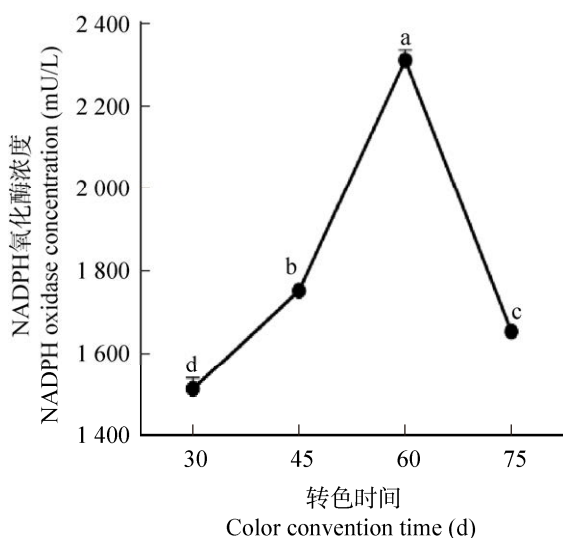


图 2 香菇后熟转色期间 NADPH 氧化酶浓度的变化

Fig. 2 NADPH oxidase concentration during postripeness color change of *Lentinula edodes* mycelia.

2.3 MDA 含量的变化

当活性氧含量过高时, 会对细胞膜系统造成一定程度的损伤, 导致膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量升高, 因此 MDA 含量常作为衡量细胞脂质过氧化情况的指标。结果表明, 在香菇后熟转色前期(30 d)时 MDA 含量最低, 为 21.543 2 nmol/g, 随着时间增长, MDA 含量逐渐增大, 在转色中期(60 d)时达到最大值 32.879 1 nmol/g, 是转色前期(30 d)的 1.52 倍, 表明香菇菌丝细胞膜损伤程度随着后熟转色时间的增长而显著增大(图 3)。

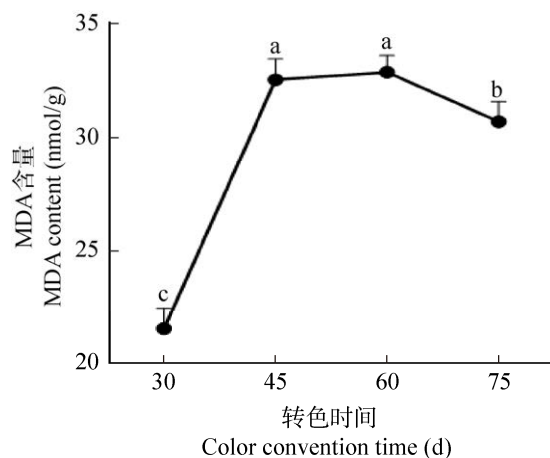


图 3 香菇后熟转色期间 MDA 含量的变化

Fig. 3 MDA content in *Lentinula edodes* during postripeness color change of mycelia.

2.4 抗氧化酶系统 SOD、CAT、POD 活性的变化

SOD、CAT、POD 作为重要的抗氧化酶, 为维持生物体内氧化平衡状态, 其相互之间紧密联系。在香菇后熟转色期间, SOD 活性与 H_2O_2 含量变化规律相似, 均呈先升后降趋势, 在转色前期(30 d)时 SOD 活性最低, 在转色中期(60 d)时达到最大值 346.621 1 U/g (图 4A)。CAT 活性随着香菇后熟转色时间的增长逐渐增大, 在转色后期(75 d)时达到最大值 587.333 5 U/g, 其活性是转色前期(30 d)的 4.58 倍(图 4B)。POD 活性在转色中期(60 d)时显著升高至峰值 368.280 7 U/g, 随后下降(图 4C)。表明 SOD 活性与 POD 活性受 H_2O_2 诱导, 随着香菇菌丝后熟转色时间的增长, 细胞膜损伤程度增大, SOD 和 POD 清除 H_2O_2 能力下降。

2.5 相关性分析

香菇菌丝后熟转色期间, H_2O_2 含量、MDA 含量、NADPH 氧化酶活性的相关性分析表明, H_2O_2 含量与 NADPH 氧化酶活性、MDA 含量呈极显著相关(r 值分别为 0.898**、0.723**); 表明在香菇菌丝后熟转色期间, NADPH 氧化酶活性伴随着活性氧的产生发挥着十分重要的作用, 且膜脂过氧化程度越高, 香菇菌丝后熟转色程度越高。

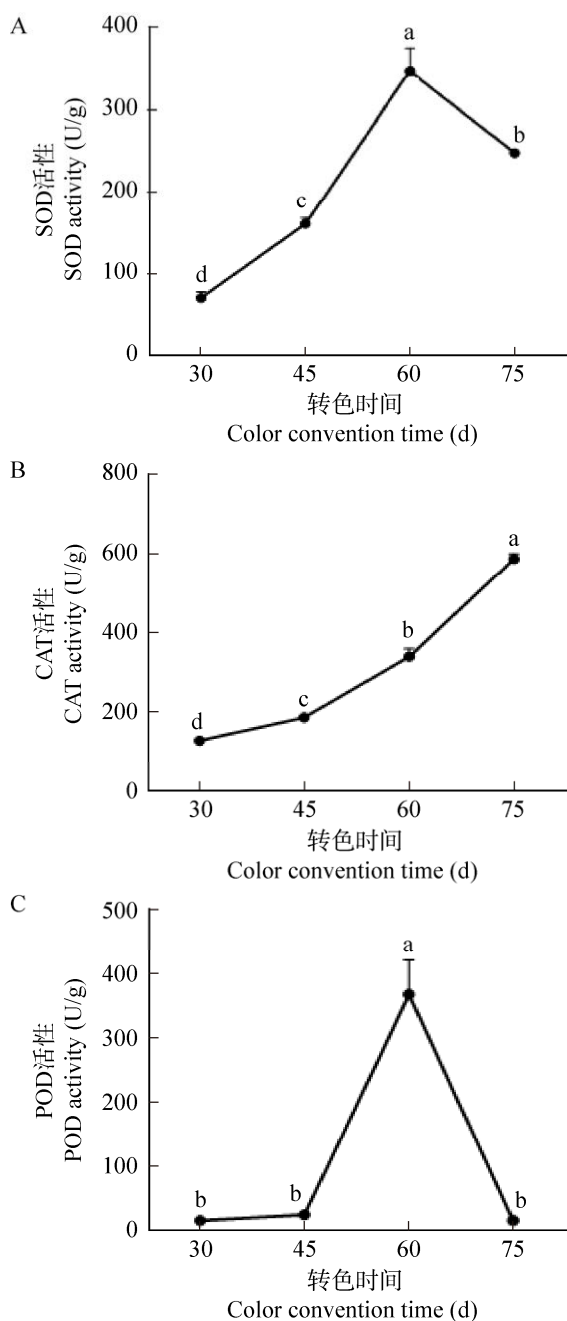


图4 香菇后熟转色期间 SOD (A)、CAT (B)、POD (C)活性的变化

Fig. 4 SOD (A), CAT (B), POD (C) activities during postripeness color change of *Lentinula edodes* mycelia.

2.6 外源施加 H_2O_2 和 DPI 对香菇菌丝后熟转色的影响

香菇菌丝长满后, 通过外源施加活性氧 (H_2O_2) 与 NADPH 氧化酶抑制剂(DPI)观察菌包

的表型变化, 结合图片及色差值数据, 直观呈现外源 H_2O_2 与 DPI 对香菇菌丝后熟转色的影响。色差仪 L 值代表颜色明暗程度(黑白), L 值越大, 说明颜色越白。在外源添加 H_2O_2 后(图 5A 上排), 菌包转色明显, 棕褐色面积较大, 表明转色程度显著高于下排对照组(图 5A), 3 组外源 H_2O_2 数据平均色差值 46.747 3 远小于空白对照组的色差值 69.031 3 (图 5C)。在外源添加抑制剂 DPI 后(图 5B 上排), 菌包转色的程度低, 菌丝白色面积较大, 表明其转色程度显著低于对照组(图 5B), 外源添加 DPI 数据平均色差值 78.66 远大于空白对照组的色差值 54.14 (图 5C)。综上可知, 外源添加一定浓度的 H_2O_2 能有效加快香菇菌丝后熟转色。

2.7 自噬特征的透射电镜分析

通过应用透射电镜对香菇菌丝后熟转色 30 (图 6A)、45 (图 6B)、60 (图 6C)、75 d (图 6D) 的菌丝细胞特征进行分析, 转色前期未见显著自噬特征, 转色中期 60 d (图 6C, 右边箭头) 体现出自噬刚开始融合膜的阶段, 同时出现较多的双层或多层膜内包含胞浆成分的液泡状结构(自噬体), 已经很明显地形成了自噬体, 60 d (图 6C, 左边箭头) 的液泡里没有可见细胞器, 很可能是自噬体降解内容物后的现象(图 6C 中间箭头所指很多膜结构被降解后的现象)。75 d (图 6D) 可以观察到部分细胞中出现代表自噬特征的新月状吞噬泡, 细胞壁较之前增厚许多, 色素层增厚, 出现少量空泡体、细胞器消失、胞壁裂解的现象, 自噬现象明显, 猜测香菇菌丝后熟转色过程中后期的自噬特征显著增加, 可能与香菇菌丝后熟转色期间的 ROS 含量密切相关。

2.8 自噬相关基因 Atg8 的表达情况

在香菇菌丝后熟转色过程中, 随着转色时间的增加, 自噬基因表达量差异较大。与香菇菌丝后熟转色前期 30 d 相比, 转色中期 60 d 的 Atg8 基因相对表达量显著升高 ($P < 0.05$) (图 7)。

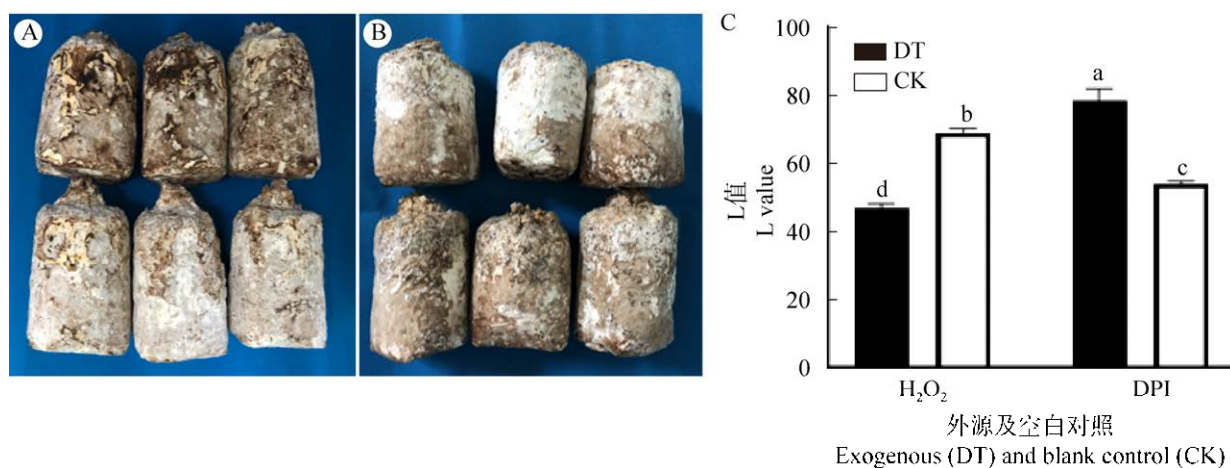


图 5 外源 H₂O₂ (A)与 DPI (B)对菌丝表层色差值 L 值(C)的影响

Fig. 5 Effects of exogenous H₂O₂ (A) and DPI (B) on the surface color difference L value (C) of mycelium.

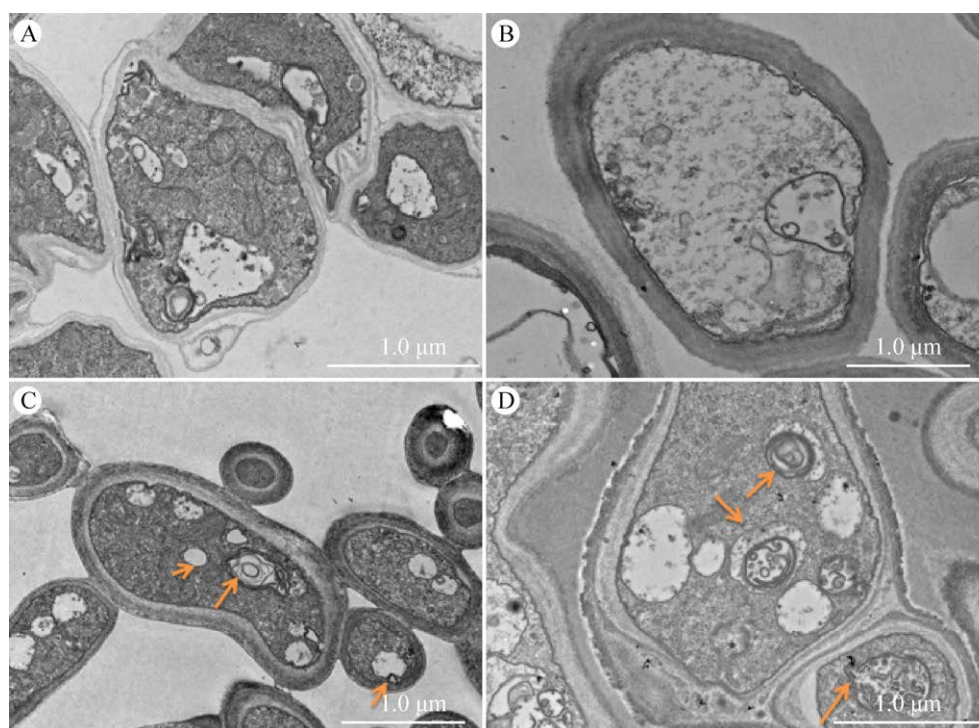


图 6 透射电镜下香菇菌丝后熟转色不同时期自噬比较

Fig. 6 Comparison of autophagy of *Lentinula edodes* mycelium at different stages of postripeness color change under transmission electron microscope.

3 讨论

活性氧作为信号传导分子,在过去的几十年里得到了广泛关注,其参与植物生长发育的调控机理也是近年来的研究热点。另外,一定浓度的活性氧可以作为调控真菌次生代谢产物的信号

分子(Karuppanapandian *et al.* 2011),但是当活性氧含量过高时,会对细胞产生毒害作用从而引发细胞死亡。为了保证生物体正常的生长发育,以 SOD、CAT、POD 为主的活性氧酶清除机制会通过调控活性氧的产生与积累使其保持在一定范围内,其中 SOD 可以将超氧阴离子转成过氧

化氢，过氧化氢再经过氧化氢酶分解成水与氧气，以此降低由 ROS 引发的氧化损伤。

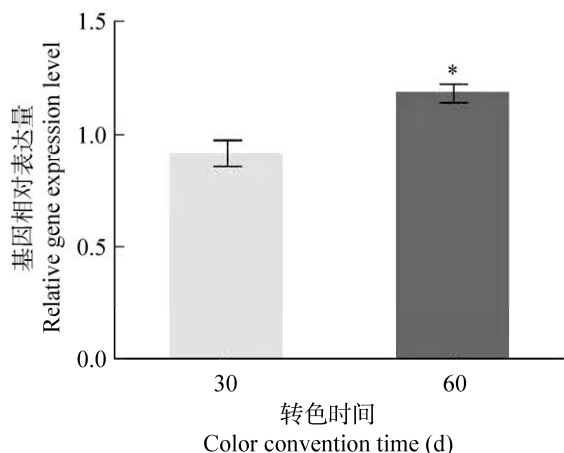


图 7 香菇菌丝后熟转色期间 30、60 d 自噬相关基因 Atg8 表达量 *表示显著差异($P<0.05$)

Fig. 7 Expression of autophagy related gene Atg8 at d30 and d60 during mycelial color transformation of *Lentinula edodes*. *Indicates a significant difference ($P<0.05$).

NADPH 氧化酶已被报道在动物、植物和许多真菌中产生活性氧(ROS)，在草菇菌丝受到环境胁迫时，NADPH 氧化酶活性和细胞内 ROS 含量呈正反应以保证菌丝正常的生长发育(Yan *et al.* 2020)。研究发现，细胞内 ROS 爆发能够增加细胞凋亡和 GA 生物合成水平，从而影响到灵芝菌丝发育和整个次生代谢过程(Zhu *et al.* 2019)。病原菌侵染引起小立碗藓配子体内 H_2O_2 含量升高以及 CAT、SOD 活性下降，说明 H_2O_2 与抗氧化酶活性相互作用(姜山等 2013)。ROS 的产生常常随着环境的变化而改变，但是 ROS 水平的波动也可能反映了内源性代谢波动，在丝状真菌粗糙脉孢菌 ROS 与昼夜关系的研究里更是大胆推测了 ROS 稳态可能对所有生物系统发育都是有利的(Norbert & Krisztina 2014)。由此可见，活性氧在真菌的生长发育过程中举足轻重，相信随着活性氧研究方法的不断增多，未来关于活性氧在真菌的应用一定愈加广泛。

香菇菌丝后熟转色作为一个独特的、不可逆转的过程，其与活性氧的相关机理尚不明确，通过本研究初步发现，在香菇菌丝后熟转色期间活性氧含量会发生显著变化，伴随着活性氧的积累、膜脂过氧化产物 MDA 的增加，会促使自身抗氧化酶活性升高，为保证正常的生长发育，一定浓度的活性氧能够有效促进香菇菌丝的后熟转色。在多种诱导自噬的信号途径中，对于 ROS 与自噬之间的关系以及它们在香菇菌丝后熟转色期间具体的作用机制鲜有报道，如何在实际应用中更加合理地开发利用还有待进一步深入研究。

[REFERENCES]

- Baba E, Uluköy G, Öntaş C, 2015. Effects of feed supplemented with *Lentinula edodes* mushroom extract on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and disease resistance against *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture*, 448: 476-482
- Deng BL, 2020. Research progress on the mechanism of reactive oxygen species regulating crop seed germination. *Anhui Agricultural Sciences*, 48(13): 21-22 (in Chinese)
- Fang LL, Yang L, Li CX, Liu QH, 2017. Changes of Atg8 expression in *Lentinus edodes* before and after color change. *Chinese Edible Fungi*, 36(3): 44-49 (in Chinese)
- Hao HB, Huang JC, Wang Q, Jun JX, Xiao TT, Song XX, Chen H, Zhang JJ, 2021. Effects of heat stress on differential expression of antioxidant enzymes and heat shock protein genes in *Agaricus bisporus*. *Acta Mycologica Sinica*, 40(3): 616-625 (in Chinese)
- Huang JL, Ma HY, Tao F, Zhang Y, 2011. Effects of regulatory treatment on characteristic enzymes of three edible fungi. *Journal of Food and Biotechnology*, 30(2): 200-206 (in Chinese)
- Jiang S, Yu ZJ, Lan SC, 2013. Changes of reactive oxygen species metabolism and transcriptional expression of disease course related protein 1 during the interaction between bryophyte and *Botrytis cinerea*. *Chinese Journal of Aeronautics*, 37(4): 349-354 (in Chinese)
- Karuppanapandian T, Moon JC, Kim C, Manoharan K, Kim W, 2011. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6): 709-725

- Kaur H, Nyochembeng LM, Mentreddy SR, Banerjee P, Cebret E, 2016. Assessment of the antimicrobial activity of *Lentinula edodes* against *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria. *Crop Protection*, 89: 284-288
- Li QZ, Jiang N, Li ZP, Song CY, Liu JY, Dong HR, Jiang J, Shang XD, 2021. Establishment of evaluation system for nutritional quality of *Lentinus edodes*. *Acta Nucifera Sinica*, 35(4): 881-890 (in Chinese)
- Li XD, Lu JP, Li HJ, Lin FC, 2011. Apoptosis of filamentous fungi. *Microbiology Bulletin*, 38(2): 242-249 (in Chinese)
- Lisanti MP, Martinez-Outschoorn UE, Chiavarina B, Pavlides S, Whitaker-Menezes D, Tsigos A, Witkiewicz AK, Lin Z, Balliet R, Howell A, Sotgia F, 2010. Understanding the 'lethal' drivers of tumor-stroma co-evolution: emerging role(s) for hypoxia, oxidative stress and autophagy /mitophagy in the tumor micro-environment. *Cancer Biology & Therapy*, 10(6): 537-542
- Norbert G, Krisztina K, 2014. Interconnections of reactive oxygen species homeostasis and circadian rhythm in *Neurospora crassa*. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(18): 3007-3023
- Pang J, Sun GQ, Yu J, Wang HY, Kang LY, Xie YJ, Bao YY, 2016. Research progress on the mechanism and influencing factors of color transformation of *Lentinus edodes* rod. *Guizhou Agricultural Sciences*, 44(3): 99-101 (in Chinese)
- Qi YC, Duan QH, Shen XY, Jue C, Shen JW, 2012. Effects of high temperature stress on physiological and biochemical characteristics of *Pleurotus ostreatus*. *Acta Edible Fungi Sinica*, 19(4): 14-16 (in Chinese)
- Ren ZZ, Liu WB, Song XL, Qi YR, Zhang C, Gao Z, Zhang JJ, Jia L, 2018. Antioxidant and anti-inflammation of enzymatic-hydrolysis residue polysaccharides by *Lentinula edodes*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120(8): 811-822
- Smirnoff N, Arnaud D, 2019. Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. *New Phytologist*, 221(3): 1197-1214
- Song Y, Liu N, Zhang JJ, Zhang M, 2020. Growth characteristics of Shenxiang series of new *Lentinus edodes* in Liaoning Province. *Edible Fungi of China*, 39(11): 22-25 (in Chinese)
- Tang DL, Kang R, Livesey KM, Cheh CW, Farkas A, Loughran P, Hoppe G, Bianchi ME, Tracey KJ, Zeh HJ, Lotze MT, 2010. Endogenous HMGB1 regulates autophagy. *The Journal of Cell Biology*, 190(5): 881
- Tang LH, Jian HH, Song CY, Bao DP, Shang XD, Wu DQ, Tan Q, Zhang XH, 2013. Transcriptome analysis of candidate genes and signaling pathways associated with light-induced brown film formation in *Lentinula edodes*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(11): 4977-4989
- Tang LH, Tan Q, Bao DP, Zhang XD, Jia HH, Li Y, Yang RH, Wang Y, 2016. Comparative proteomic analysis of light-induced mycelial brown film formation in *Lentinula edodes*. *BioMed Research International*, 2016: 1-8
- Wang SH, Shih YL, Kuo TC, Ko WC, Shih CM, 2009. Cadmium toxicity toward autophagy through ROS-activated GSK-3 β in mesangial cells. *Toxicological Sciences*, 108(1): 124-131
- Wang Y, Huang CS, Jia NQ, 2020. Organic small molecule fluorescent probes for monitoring cell microenvironment and active molecules. *Chemical Progress*, 32(Z1): 204-218 (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Yan JJ, Tong ZY, Liu YY, Liu ZY, Long Y, Han X, Xu WN, Huang QH, Tao YX, Xie BG, 2020. The NADPH oxidase in *Volvariella volvacea* and its differential expression in response to mycelial ageing and mechanical injury. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(10): 87-94
- Yan SY, Jiang XJ, 2015. Overview of autophagy and related research in fungi. *Mycosystema*, 34(5): 871-879 (in Chinese)
- Yang CH, Ma SX, Bai QY, 2010. Color changing of *Lentinus edodes* rod is the key to produce good mushroom. *Chinese Edible Fungi*, 29(6): 63-64 (in Chinese)
- Yao YC, Wei PP, Li M, Zhang KC, Fan GZ, 2020. Effects of hydrogen sulfide on different forms of calcium and superoxide anion in *Phellinus igniarius* mycelium. *Chinese Edible Fungi*, 39(12): 106-111 (in Chinese)
- You SJ, Shi JJ, Zhang YL, Liu CF, 2011. ROS mediated autophagy and its role in related diseases. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 27(1): 187-190 (in Chinese)
- Yu HL, Lv BB, Song CY, Shang XD, Zhang LJ, Zhang MY, Tan Q, 2016. Effect of compound nitrogen sources on growth and yield of *Lentinus edodes*. *Shanghai Journal of Agriculture*, 32(3): 63-66 (in Chinese)
- Zhou SC, Zou G, Yang ZS, Bao DP, Yao WW, Yang J, Wang Y, Li XL, 2019. Physiological and biochemical characteristics of degenerated strains of *Cordyceps militaris*. *Acta Edulis Fungi*, 26(4): 23-28 (in Chinese)
- Zhu J, Wu F, Yue S, Chen C, Song SQ, Wang H, Zhao MW, 2019. Functions of reactive oxygen species in apoptosis and ganoderic acid biosynthesis in *Ganoderma lucidum*. *FEMS Microbiology Letters*, 366: 23
- Zhu W, Gong FP, Duan QH, Shang Guan DL, Zhang ZY, Yin CC, Chen J, Zhang YX, 2020. Technical regulation for

autumn cultivation of substitute *Lentinus edodes* in Henan Province. *Edible Fungi of China*, 39(2): 19-21 (in Chinese)

[附中文参考文献]

- 邓本良, 2020. 活性氧调控作物种子发芽机理的研究进展. *安徽农业科学*, 48(13): 21-22
- 房丽丽, 杨丽, 李翠新, 刘庆洪, 2017. 香菇转色前后 Atg8 表达的变化规律研究. *中国食用菌*, 36(3): 44-49
- 郝海波, 黄建春, 王倩, 隗加香, 肖婷婷, 宋晓霞, 陈辉, 张津京, 2021. 热胁迫对双孢蘑菇抗氧化酶及热激蛋白基因的差异表达的影响. *菌物学报*, 40(3): 616-625
- 黄俊丽, 马海燕, 陶菲, 张慙, 2011. 调控处理对 3 种食用菌特性酶的影响. *食品与生物技术学报*, 30(2): 200-206
- 姜山, 余治锦, 兰世超, 2013. 小立碗藓-灰霉菌互作过程中活性氧代谢及病程相关蛋白 1 转录表达的变化. *江西师范大学学报*, 37(4): 349-354
- 李巧珍, 姜宁, 李正鹏, 宋春艳, 刘建雨, 董浩然, 蒋俊, 尚晓冬, 2021. 香菇营养品质评价体系的构建. *核农学报*, 35(4): 881-890
- 厉晓东, 卢建平, 李海娇, 林福呈, 2011. 丝状真菌的细胞凋亡. *微生物学通报*, 38(2): 242-249
- 庞杰, 孙国琴, 于静, 王海燕, 康立茹, 解亚杰, 包妍妍, 2016. 香菇菌棒转色机理及影响因素的研究进展. *贵州农业科学*, 44(3): 99-101

- 戚元成, 段庆虎, 申晓晔, 决超, 申进文, 2012. 高温胁迫对糙皮侧耳菌丝生理生化特性的影响. *食用菌学报*, 19(4): 14-16
- 宋莹, 刘娜, 张季军, 张敏, 2020. 申香系列香菇新品种在辽宁地区的生长特性. *中国食用菌*, 39(11): 22-25
- 王阳, 黄楚森, 贾能勤, 2020. 监测细胞微环境及活性分子的有机小分子荧光探针. *化学进展*, 32(Z1): 204-218
- 闫思源, 姜学军, 2015. 细胞自噬及真菌中自噬研究概述. *菌物学报*, 34(5): 871-879
- 杨春华, 马树新, 白琼岩, 2010. 香菇菌棒转色是出好菇的关键环节. *中国食用菌*, 29(6): 63-64
- 姚雨辰, 魏盼盼, 李茂, 张恪诚, 范桂枝, 2020. 硫化氢对桑黄菌丝中不同形态钙含量和超氧阴离子产生的影响. *中国食用菌*, 39(12): 106-111
- 尤寿江, 石际俊, 张艳林, 刘春风, 2011. ROS 介导的自噬及其在相关疾病中的作用. *中国病理生理杂志*, 27(1): 187-190
- 于海龙, 吕贝贝, 宋春艳, 2016. 复合氮源对香菇生长及产量的影响分析. *上海农业学报*, 32(3): 63-66
- 周思池, 邹根, 杨占山, 鲍大鹏, 姚威威, 杨杰, 汪滢, 李晓玲, 2019. 蛹虫草退化菌株的生理生化特征. *食用菌学报*, 26(4): 23-28
- 竹玮, 龚凤萍, 段庆虎, 上官端琳, 张宗源, 尹川川, 陈静, 张应香, 2020. 河南省代料香菇秋栽生产技术规范. *中国食用菌*, 39(2): 19-21