

## 肥皂草素对斑玉蕈菌丝体抗氧化酶活性及相关基因表达量的影响

崔世瑞<sup>1,2</sup> 陈辉<sup>2</sup> 陈明杰<sup>2</sup> 汪虹<sup>2</sup> 冯志勇<sup>1,2\*</sup>

(1. 南京农业大学 生命科学学院 江苏 南京 210095)

(2. 上海市农业科学院食用菌研究所 农业部南方食用菌资源利用重点实验室 国家食用菌工程技术中心  
国家食用菌加工技术研发分中心 上海 201403)

**摘要:**【目的】研究肥皂草素对斑玉蕈菌丝体的活性氧代谢、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性及其基因表达的影响。【方法】在摇瓶培养基中添加不同浓度的肥皂草素研究菌丝体在不同培养时间内活性氧代谢、SOD 和 CAT 的活性及其基因表达的变化。【结果】添加肥皂草素后,在 7-11 d 内超氧阴离子及丙二醛(MDA)的含量整体较对照组有升高趋势,但是在 13-15 d 含量较对照又有所下降;肥皂草素处理的菌丝体 SOD 活性随着浓度的增加而逐渐增强(第 9 天除外),特别是在培养 13-15 d 更加明显;CAT 活性同样随着浓度的增加而逐渐增强,特别是 0.05 g/L 实验组酶活性始终保持在较高的水平;不同浓度的肥皂草素都能使 Mn-SOD 基因、CAT 基因的表达出现上调趋势,在 0.05 g/L 时,肥皂草素诱导 Mn-SOD 基因的表达与其活性的变化趋势基本一致,而 CAT 基因表达与其活性的变化并不一致,其活性可能受基因翻译后的修饰调控等因素的影响。【结论】肥皂草素的添加能够诱导 SOD 和 CAT 酶活性的增强及上调 Mn-SOD、CAT 基因的表达量,减缓菌丝培养后期活性氧和 MDA 的积累。

**关键词:** 肥皂草素, 斑玉蕈, 抗氧化酶, 基因表达

## Effects of saponin on activities and gene expressions of antioxidant enzyme in *Hypsizygus marmoreus* mycelium

CUI Shi-Rui<sup>1,2</sup> CHEN Hui<sup>2</sup> CHEN Ming-Jie<sup>2</sup> WANG Hong<sup>2</sup> FENG Zhi-Yong<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

(2. Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Edible Fungi Resources and Utilization (South), Ministry of Agriculture, P. R. China, National Engineering Research Center of Edible Fungi, National RD Center for Edible Processing, Shanghai 201403, China)

**Abstract:** [Objective] To examine the effects of saponin on the metabolism of reactive oxygen species (ROS), the activities and the gene expressions of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in *Hypsizygus marmoreus* mycelium. [Methods] *Hypsizygus marmoreus* mycelium were treated with 0, 0.01, 0.05 g/L saponin for 7 to 15 days under shake-flask culture condition. [Results] The content of

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31401932)

\*通讯作者: ✉: feng\_zy@yahoo.com

收稿日期: 2014-10-16; 接受日期: 2014-12-04; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-12-16

superoxide radical and MDA increased than the control group during 7 to 11 days adding saponin to the culture, and then decreased than the control group after 13 days. SOD activities enhanced with the increasing of saponin concentration during 7 to 15 days (except the 9th day), especially during 13 to 15 days. CAT activities showed the same trends as SOD activities, and always kept a high level with 0.05 g/L saponin exposure. The abundance of Mn-SOD and CAT genes were up-regulated in all concentration treatments. With 0.05 g/L treatment, the expression of gene encoding Mn-SOD showed the same trend as SOD activities. However, expression of CAT gene was not in accordance with the trend of CAT activities. It inferred that CAT activities might effected by post-translational modification. **[Conclusion]** Saponin can induce the increase of antioxidant enzyme activities of SOD and CAT, as well as up-regulate corresponding gene expressions, which might slow down the accumulation of MDA and superoxide radical in the later culture period.

**Keywords:** Saponin, *Hypsizygus marmoreus*, Antioxidant enzyme, Gene expression

斑玉蕈(*Hypsizygus marmoreus*)又名真姬菇、蟹味菇、海鲜菇等,自20世纪70年代人工栽培成功以来,市场需求不断扩大,已成为重要的工厂化生产食用菌之一,产量不断提升<sup>[1]</sup>。

肥皂草素是一种商品化的皂苷类物质,又名肥皂素、皂草黄素等,皂苷类物质是生物体所产生的一种次级代谢产物,主要存在于高等植物中<sup>[2-3]</sup>,其具有多种生物活性功能,如抗肿瘤、增强抵抗力、降血糖等<sup>[4]</sup>。许多皂苷类物质还具有重要的经济价值,如人参皂苷等。近年来在对斑玉蕈活性物质提取纯化的研究中也发现了皂苷的存在<sup>[5]</sup>,目前对于食用菌中皂苷的研究主要集中在活性物质的提取分离上,有关皂苷类物质对食用菌生长发育过程中生理生化影响的研究较为少见。

斑玉蕈从菌丝的营养生长向生殖生长转化前需经过一个45 d左右的菌丝体后熟阶段,这极大地影响了生产效率,因此促进原基的产生以减少后熟阶段可缩短栽培周期。Yumi<sup>[6]</sup>的研究表明,添加外源的三萜皂苷能够抑制平菇菌丝的营养生长,加快菌丝体从营养生长向生殖生长的转化,促进原基的产生。对人参研究显示<sup>[7-8]</sup>,添加外源的三萜皂苷(人参皂苷)能够抑制人参幼根的生长,因为添加的三萜皂苷物质,改变了机体内的抗氧化酶活性,打破了活性氧产生和清除机制的平衡,造成了活性氧(ROS)含量的上升,导致了丙二醛(MDA)含量的积累。皂苷类物质对斑玉蕈菌丝生长及对菌丝体抗氧

化酶活性是否也存在相应的影响,目前还未见报道。

本文研究了不同浓度的肥皂草素对不同培养时期的斑玉蕈菌丝体SOD和CAT酶活性的影响,并利用实时荧光定量PCR的方法,研究了Mn-SOD基因和CAT基因在转录水平的表达。在生理和分子水平揭示了肥皂草素调控斑玉蕈菌丝体内活性氧代谢的机制,肥皂草素打破了活性氧产生和清除机制的平衡,促进菌丝体从营养生长向生殖生长阶段的转化,进而缩短斑玉蕈的后熟期,为提高斑玉蕈的生产效率提供一种思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和试剂

斑玉蕈 SIEF3257 菌株,由上海市农业科学院食用菌研究所菌种保藏中心提供。

TRIzol 试剂,购自北京赛百盛基因技术有限公司; PrimeScript<sup>TM</sup> RT reagent Kit with gDNA Eraser、SYBR<sup>®</sup> Premix ExTaq<sup>TM</sup> (Tli RNaseH Plus)、Taq DNA 酶、凝胶回收试剂盒,购自宝生物工程(大连)有限公司; TOP10 感受态细胞、质粒小量制备试剂盒,购自天根生化科技(北京)有限公司; pGEM-T Easy Vector System,购自普洛麦格(北京)生物技术有限公司; 马铃薯葡萄糖肉汤培养基、马铃薯葡萄糖琼脂培养基,购自碧迪医疗器械(上海)有限公司; 微量丙二醛(MDA)含量测定试剂盒,购自南京建成科技有限公司; 其他化学试剂均为国产分析纯。

## 1.2 斑玉蕈菌丝的培养及处理方法

**1.2.1 固体平板培养:** 250 mL 的三角瓶装 100 mL 马铃薯葡萄糖琼脂培养基,  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 15 min, 冷却至 50 °C 以下加入过滤除菌的肥皂草素母液, 使肥皂草素母液在培养基中的终浓度分别为 0、0.01、0.05、0.10 g/L, 混合均匀后倒平板, 待平板凝固后, 接入直径为 6 mm 的菌块, 25 °C 培养。

**1.2.2 液体摇瓶培养:** 250 mL 摇瓶装 100 mL 马铃薯葡萄糖肉汤培养基, 灭菌后接种 6 块直径 6 mm 的活化后平板母种, 25 °C、150 r/min 培养 11 d, 用作液体母种。250 mL 摇瓶装 100 mL 马铃薯葡萄糖肉汤培养基, 灭菌后接入 5% 用均质仪打碎的液体母种, 同时加入过滤除菌的肥皂草素母液, 使其在培养基中的浓度分别为 0、0.01、0.05 g/L, 在 25 °C、150 r/min 条件下培养, 因斑玉蕈菌丝体生物量在此培养基中前 7 天没有显著性的变化, 于第 7 天进入快速生长阶段, 因此分别在培养的第 7、9、11、13、15 天收集菌丝, 液氮速冻后收入 -80 °C 备用。

## 1.3 斑玉蕈菌丝生长速度的测量

采用十字划线法测量菌丝的生长速度, 待菌块开始萌发后开始划线, 每隔 3 d 划线一次, 计算菌丝的平均生长速度。

## 1.4 SOD 和 CAT 活性、超氧阴离子及 MDA 含量的测定

称取 0.5 g 菌丝, 加入 5 mL 预冷的 50 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH 7.0), 冰浴上研磨成匀浆, 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min, 转移上清液至新管中, 12 000 r/min 离心 20 min 后上清液即为粗酶液, 用于测定酶活和蛋白质含量。SOD 酶活性的测定利用核黄素-NBT 法<sup>[9]</sup>, 以抑制 NBT 还原的 50% 为一个酶活单位; CAT 酶活性测定利用紫外吸收法<sup>[9]</sup>, 反应液包括 25 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH 7.0), 10 mmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和酶提取液, 在 240 nm 下连续测定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解 3 min; 酶液蛋白含量的测定采用牛血清蛋白法; 超氧阴离子含量的测定参照王爱国等<sup>[10]</sup>方法进行; MDA 含量的测定按照试剂盒说明书进行操作。

## 1.5 SOD 和 CAT 基因的克隆

### 1.5.1 斑玉蕈菌丝 RNA 的提取及 cDNA 的合成:

斑玉蕈菌丝 RNA 的提取参照 TRIzol 试剂说明书进行, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量, 测定 RNA 浓度后, 根据反转录试剂盒, 去除基因组 DNA 并反转录成为 cDNA, -20 °C 保存。

**1.5.2 SOD 和 CAT 基因引物的设计及克隆:** 斑玉蕈转录组测序结果中可以找到 Mn-SOD、CAT 相关的基因片段, 用 BLASTx 对核苷酸序列进行比对, 结果显示与已知基因的氨基酸序列有较高的同源性, 然后根据相应的基因片段利用 Primer 5.0 软件设计引物(表 1)。

以合成的斑玉蕈 cDNA 为模板, 运用常规 PCR 进行扩增。反应总体积 25  $\mu$ L, 包括 10 $\times$ Buffer 2.5  $\mu$ L, 10 mmol/L 的 dNTPs 1  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol/L 的正反向引物各 1  $\mu$ L, 模板 cDNA 0.5  $\mu$ L, 5 U/ $\mu$ L 的 Taq 酶 0.25  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 18.75  $\mu$ L。PCR 反应条件为: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 60 s, 35 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物电泳回收后与 pGEM-T Easy Vector 连接后转入 TOP10 感受态细胞, 蓝白斑筛选, 进行菌落 PCR 验证, 挑选阳性克隆提取质粒, 构建用于实时荧光定量 PCR 实验的标准品质粒, 质粒由上海生工生物工程技术有限公司测序。具体操作参照汪虹等<sup>[11]</sup>的方法。

表 1 实时荧光定量 PCR 的引物

Table 1 Primers used in qRT-PCR

引物 Primer	序列 Sequences (5'→3')	碱基数 Size (bp)
Mn-SOD-F	ATCTTCCCTACGCTACGA	18
Mn-SOD-R	GTTTGATGGTGCTTCTTG	20
CAT-F	AACCGTCCGTTTCTCCACT	19
CAT-R	CCAATCCCAATTACCTTCCT	20
18S-T	GAGGGACCTGAGAAACG	17
18S-R	ATAAGACCCGAAAGAGCC	18

## 1.6 Mn-SOD 和 CAT 基因的实时荧光定量测定

采用双标准曲线法进行实时荧光定量测定, 仪器采用 Applied Biosystems StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪。采用 Perfect Real Time 试剂盒(含 SYBR Green I 荧光染料), 反应总体积为 20  $\mu\text{L}$ , SYBR Premix ExTaq<sup>TM</sup> (2 $\times$ ) 10  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{mol/L}$  的正反向引物各 0.4  $\mu\text{L}$ , ROX reference Dye (50 $\times$ ) 0.4  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 6.8  $\mu\text{L}$ , cDNA 2  $\mu\text{L}$ 。定量 PCR 条件为: 95  $^{\circ}\text{C}$  3 min; 95  $^{\circ}\text{C}$  5 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  15 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  15 s, 40 个循环。将内含参基因(18S)与目的基因的标准品质粒依次进行 10 倍稀释, 得到 5 个梯度的标准品浓度, 在定量 PCR 仪上进行扩增标准曲线的构建。同时以不同浓度的肥皂草素处理的同一时间点的 cDNA 和同一浓度处理的不同时间段的 cDNA 为模板分别进行内参基因和目的基因的扩增, 每个样品设置 3 个平行重复, 每组样品设置 3 个阴性对照, 相对定量的结果由软件自动生成。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度的肥皂草素处理对斑玉蕈菌丝生长速度的影响

对不同浓度肥皂草素处理斑玉蕈菌丝的生长速度进行测量, 结果发现(图 1), 添加外源肥皂草素对菌丝在平板中的生长速度有抑制作用, 且随着肥皂草素浓度的增加其抑制效果越明显, 当肥皂草素浓度为 0.05 g/L 时, 生长速度减幅达到 43.9%; 当添加的肥皂草素浓度为 0.10 g/L 时, 菌丝的生长受到严重的抑制, 无法正常生长。后续实验中以 0.01 g/L 和 0.05 g/L 作为实验浓度。

### 2.2 不同浓度的肥皂草素对菌丝超氧阴离子含量和 MDA 含量的影响

超氧阴离子的化学性质非常活泼, 能与大多数物质发生反应而造成广泛的破坏作用。它也是衡量膜脂过氧化程度的一种重要的指标。如图 2 所示, 对照组与实验组的超氧阴离子含量都随着培养时间延长而逐渐升高, 添加外源肥皂草素浓度为 0.01 g/L 时, 超氧阴离子含量在第 9 天时显著高于

对照组, 第 13 天含量开始低于对照组, 15 d 达到显著水平。添加外源肥皂草素的浓度为 0.05 g/L 时超氧阴离子的含量在第 7 天时显著高于对照组, 从第 11 天开始含量开始低于对照。对 MDA 的测定结果显示, 对照组与实验组 MDA 的变化趋势基本一致, 都是先降低后逐渐升高, 培养 7-11 d 时外源肥皂草素的添加促进 MDA 含量的增加, 且与浓度成正比关系, 但是在培养 13 d 开始实验组 MDA 含量反而低于对照(图 3), 这种变化趋势与超氧阴离子含

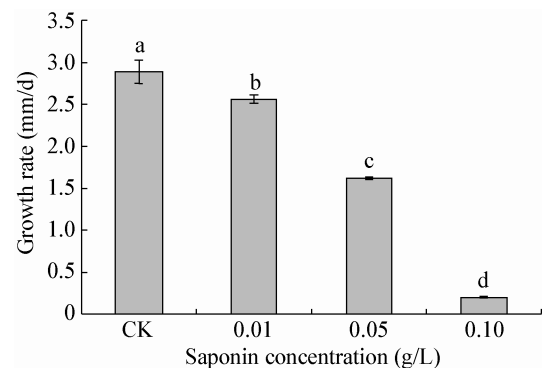


图 1 不同浓度的肥皂草素对菌丝生长速度的影响

Figure 1 Effect of different saponin treatments on mycelium growth rate

注: 方柱上不同字母表示差异达 5% 显著水平。

Note: Letters above the square column indicate significant different at 5% level.

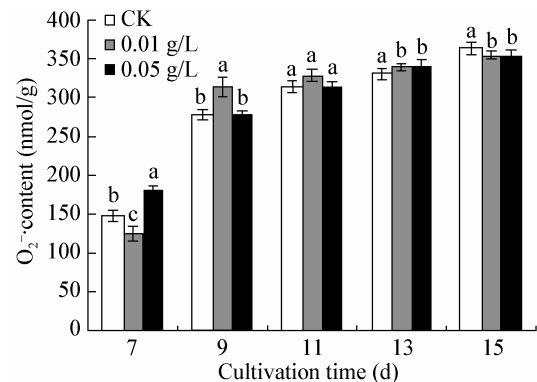


图 2 不同浓度的肥皂草素对菌丝体超氧阴离子含量的影响

Figure 2 Effect of different saponin treatments on mycelium O<sub>2</sub><sup>·-</sup> content

注: 方柱上不同字母表示差异达 5% 显著水平。

Note: Letters above the square column indicate significant different at 5% level.

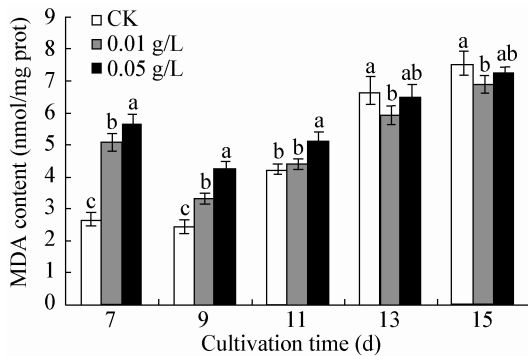


图3 不同浓度的肥皂草素对菌丝体MDA含量的影响  
Figure 3 Effect of different saponin treatments on MDA content of mycelium

注: 方柱上不同字母表示差异达5%显著水平。

Note: Letters above the square column indicate significant different at 5% level.

量的趋势相一致。这表明, 添加外源的肥皂草素能够促进培养前期超氧阴离子和MDA含量的积累, 造成一定的氧化胁迫。

### 2.3 不同浓度的肥皂草素对菌丝SOD和CAT活性的影响

SOD和CAT是机体内活性氧清除的酶系统, SOD催化超氧阴离子分解为 $H_2O_2$ , CAT再进一步催化 $H_2O_2$ 分解为水。如图4所示, 添加外源肥皂草素浓度为0.01 g/L时, 在7-15 d的培养过程中(除第9天)中SOD酶活性高于对照, 而当肥皂草素浓度为0.05 g/L时, 在7-15 d的培养过程中SOD酶活性始终高于对照, 特别是在培养的第15天。培养的第7天, 0.01 g/L实验组的酶活性则高于0.05 g/L实验组。CAT酶活性的测定结果显示, 添加肥皂草素后, CAT酶活性增加, 当肥皂草素浓度为0.05 g/L时, 促进作用明显, 在7-15 d的培养过程中酶活性始终保持在较高水平。肥皂草素浓度为0.01 g/L时, 酶活性的最高值出现在第11天, 较之对照组出现后移现象(图5), 这说明肥皂草素胁迫下菌丝体本身能够通过增加酶活性来适应外界环境的刺激, 有效减缓活性氧及MDA含量的积累, 维持正常的生长发育, 特别是在培养后期, 保持较高酶活性, 能够促使超氧阴离子和MDA浓度的降低(图2、3)。

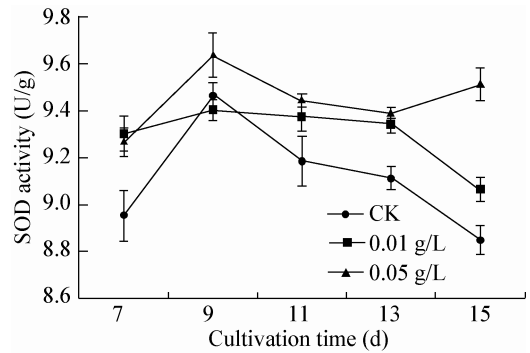


图4 不同浓度的肥皂草素对菌丝体SOD活性的影响  
Figure 4 Effect of different saponin treatments on mycelium SOD activity

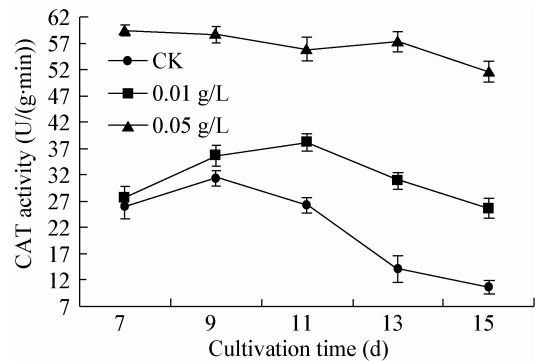


图5 不同浓度的肥皂草素对菌丝体CAT活性的影响  
Figure 5 Effect of different saponin treatments on mycelium CAT activity

### 2.4 不同浓度的肥皂草素对菌丝Mn-SOD和CAT基因表达量的影响

根据从转录组中获得相关的基因片段, 设计荧光定量的引物(表1), 采用荧光定量PCR分析Mn-SOD和CAT基因在不同浓度肥皂草素处理时基因的相对表达量, 如图6所示, 添加外源肥皂草素后, Mn-SOD基因表达量均出现上调趋势, 肥皂草素浓度为0.01 g/L时基因的表达量是对照的5.04倍; CAT基因的表达量同样也都出现上调趋势, 浓度为0.01 g/L时基因表达量是对照的4.78倍, 但浓度为0.05 g/L时上调作用并不明显。

### 2.5 肥皂草素对不同培养时期菌丝Mn-SOD和CAT基因表达量的影响

利用实时荧光定量PCR分析Mn-SOD和CAT基因在不同培养时期的相对表达量。如图7所示,

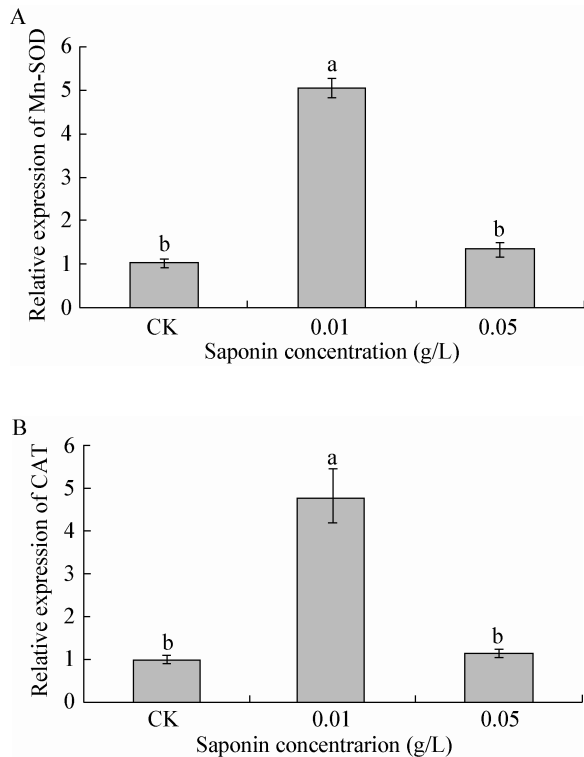


图 6 不同浓度的肥皂草素对菌丝体 Mn-SOD (A)和 CAT (B)基因表达量的影响

Figure 6 Effect of different saponin treatments on Mn-SOD (A) and CAT (B) gene expressions of mycelium

注: 方柱上不同字母表示差异达 5%显著水平.

Note: Letters above the square column indicate significant different at 5% level.

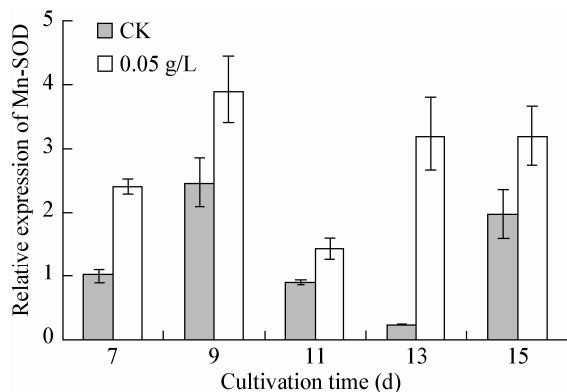


图 7 肥皂草素对不同培养时期菌丝体 Mn-SOD 基因表达量的影响

Figure 7 Effect of saponin treatments on Mn-SOD gene expressions during different cultivation time

添加外源肥皂草素使 Mn-SOD 基因的表达被诱导, 表达量出现上调趋势, 分别是对照组基因表达量的 2.40、1.59、1.64、14.28、1.63 倍, 特别是在培养后期, 上调趋势较为明显, 其整个变化趋势与酶活性的变化趋势基本一致(图 4)。添加外源肥皂草素后, 在 7-15 d 的培养过程中(除第 11 天) CAT 基因的表达量也出现上调趋势(图 8), 在培养的后期(13-15 d)基因的上调趋势最为明显, 分别是对照组的 5.24 倍和 1.90 倍, 在第 15 天时基因的表达量达到最高, 但该结果与酶活性在整个培养过程中都保持较高水平的趋势并不一致(图 5)。

### 3 讨论

在正常机体内, 活性氧的产生和清除处于动态平衡中, 当外界胁迫后平衡被打破, 造成活性氧积累, 机体会产生相应的应激反应<sup>[12-13]</sup>。添加不同浓度肥皂草素能够促进斑玉蕈菌丝体 SOD 和 CAT 酶活性增加, 促进作用随浓度的升高而增强, 在 0.05 g/L 浓度下, CAT 酶活性在 7-15 d 的培养过程中始终保持在较高的水平, 这说明肥皂草素的添加能够刺激机体的氧化应激反应, 活性氧作为信号分子诱导增加机体抗氧化酶活性<sup>[14]</sup>, 从而维持正常的生长发育。SOD 是机体内活性氧清除的第一道防线, 能有效歧化反应清除超氧阴离子<sup>[15]</sup>, SOD 只有

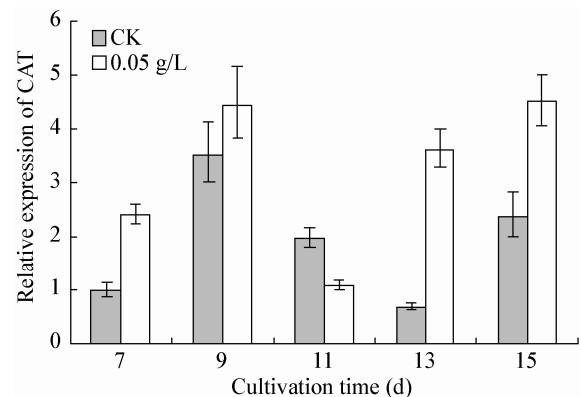


图 8 肥皂草素对不同培养时期菌丝体 CAT 基因表达量的影响

Figure 8 Effect of saponin treatments on CAT gene expressions during different cultivation time

与 CAT、POD 协调一致才能有效防止自由基的积累和伤害,在前期的预实验中我们发现斑玉蕈菌丝体中 POD 活性很低,且在整个过程中 POD 活性变化不大,这也与已有的研究结论一致<sup>[16]</sup>,这说明在斑玉蕈机体内 SOD 和 CAT 可能是主要的抗氧化酶。菌丝体内 SOD 酶活性增加后,超氧阴离子被大量清除,所以在培养后期超氧阴离子的含量较对照有所下降,这也与超氧阴离子和 MDA 含量的变化趋势相一致。在其他的食用菌,如阿魏菇菌丝<sup>[17]</sup>抗氧化系统的研究中也发现有相似的抗氧化机制,在低温胁迫下,阿魏菇存在着应答反应,细胞通过提高 SOD 和 CAT 酶活性而增强对活性氧的清除能力可以较好地保护机体少受过氧化氢和活性氧所造成的伤害。王松华等<sup>[18]</sup>研究表明,在低温处理前期,草菇菌丝体可以通过增强 SOD、POD 和 CAT 同工酶的表达而提高活性氧的清除能力,进而增强了抗胁迫的能力。

抗氧化酶对活性氧的清除能力既取决于转录水平基因的表达量,又取决于翻译水平蛋白的合成量及翻译后修饰调控。前期的实验中进行了斑玉蕈整个生长发育时期转录组的分析,在菌丝体阶段未发现 Cu/Zn-SOD 基因的相关片段,这说明可能在斑玉蕈的菌丝阶段 Cu/Zn-SOD 基因不表达或者表达量较低。添加外源的肥皂草素能够上调 Mn-SOD 和 CAT 基因的表达,在整个培养过程中 Mn-SOD 的基因表达量的变化趋势与 SOD 酶活的变化趋势基本一致,这一研究结果表明肥皂草素可以通过在转录水平提高 Mn-SOD 的表达量来调控 SOD 酶活性,从而提高 SOD 清除活性氧的能力,在对植物的研究中也相似的结论<sup>[19-21]</sup>。CAT 基因的表达量除去第 11 天外都表现出上调趋势,但是培养的第 7 天和第 13 天表达量相对较低,在第 15 天有最高的表达量,这与 CAT 酶活性的变化并不一致。赵士成等<sup>[20]</sup>在玉米中也发现 CAT 基因表达量变化与 CAT 酶的活性变化并不一致,梁国庆等<sup>[22]</sup>研究表明加钙处理后苹果的 CAT1 基因表达量与 CAT 酶活性的变化并不同步,鹿宁<sup>[23]</sup>研究表明高温胁迫下 3 个品种

龙须菜 CAT 基因的表达量与高温胁迫下 CAT 酶活性的变化趋势不一致。因此肥皂草素对于斑玉蕈菌丝体 CAT 酶活性的影响并不完全取决于 CAT 基因表达量,其活性还受到该基因翻译后的修饰调控等因素的影响。

## 参 考 文 献

- [1] Zhang JX. Science and Development of Chinese Mushroom Industry[M]. Beijing: Chinese Agricultural Science Press, 2009: 45-49 (in Chinese)  
张金霞. 中国食用菌产业科学与发展[M]. 北京: 中国农业科学出版社, 2009: 45-49
- [2] Li J, Zhang LW, Liu N, et al. Study on extraction process of total saponins of *Momordica charantia*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2005, 26(10): 117-119 (in Chinese)  
李建, 张令文, 刘宁, 等. 苦瓜总皂苷提取工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2005, 26(10): 117-119
- [3] Li HB, Li L, Hu SQ, et al. Study on extraction of triterpene glucoside from *Siraitia grosvenorii* with microwave treatment[J]. Food Science, 2003, 24(2): 92-95 (in Chinese)  
黎海滨, 李琳, 胡松青, 等. 微波辅助提取罗汉果皂甙的研究[J]. 食品科学, 2003, 24(2): 92-95
- [4] Li J, Huang Y, Chen SJ, et al. The research progress on biological activities of momordicosides[J]. Food Research and Development, 2008, 29(3): 144-146 (in Chinese)  
李健, 黄燕, 陈姝娟, 等. 苦瓜皂苷生物活性的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(3): 144-146
- [5] Tao MX, Wang W, Wang XW, et al. Analysis of nutrient components and bioactive substance of *Hypsizygus marmoreus* and study on activity of polysaccharides scavenging free radicals[J]. Food Science, 2007, 28(8): 404-407 (in Chinese)  
陶明焯, 王玮, 王晓炜, 等. 真姬菇营养成分生物活性物质分析及其多糖清除自由基活性研究[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 404-407
- [6] Yumi M. Saponin stimulates fruiting of the edible Basidiomycete *Pleurotus ostreatus*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1999, 63(10): 1840-1842
- [7] Zhang AH, Lei FJ, Xu YH, et al. Effects of ginsenosides on the germinating of ginseng seeds and on the activity of antioxidant enzymes of the radicles of ginseng seedlings *in vitro*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(9): 4934-4941 (in Chinese)  
张爱华, 雷锋杰, 许永华, 等. 外源人参皂苷对人参种子萌发和幼根抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(9): 4934-4941
- [8] Zhang QJ. The studies of effects of triterpenoid ginsenosides on growth development in ginseng, american ginseng and other plants[D]. Changchun: Doctoral Dissertation of Jilin Agricultural University, 2012 (in Chinese)  
张秋菊. 三萜人参皂苷对人参、西洋参等植物生长发育的效应研究[D]. 长春: 吉林农业大学博士学位论文, 2012
- [9] Zhang ZA, Zhang MS, Wei RH. Experimental Guide of Physiology of Plant[M]. Beijing: Chinese Agricultural Science

- and Technology Press, 2004, 75-76,132-137 (in Chinese)  
张志安, 张美善, 蔚容海. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004, 75-76,132-137
- [10] Wang AG, Luo GH. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants[J]. Plant Physiology Communications, 1990(6): 55-57 (in Chinese)  
王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990(6): 55-57
- [11] Wang H, Chen MJ. Construction of recombinant plasmid and standard curve of real-time PCR for cold induced of *Volvariella volvacea*[J]. Acta Edulis Fungi, 2007, 14(3): 16-19 (in Chinese)  
汪虹, 陈明杰. 草菇冷诱导 *Cor3* 基因实时荧光定量 PCR 标准品质粒和标准曲线的构建[J]. 食用菌学报, 2007, 14(3): 16-19
- [12] Kreslavski VD, Los DA, Allakhverdiev SI, et al. Signaling role of reactive oxygen species in plants under stress[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2012, 59(2): 141-154
- [13] Vicente AR, Martinez GA, Chaves AR, et al. Effect of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 40(2): 116-122
- [14] Ahmad P, Sarwat M, Sharma S. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants[J]. Journal of Plant Biology, 2008, 51(3): 167-173
- [15] Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(12): 909-930
- [16] Zhou XT. Study on optimal condition and practical technique for the storage of *Hypsizygus marmoreus*[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2010 (in Chinese)  
周雪婷. 真姬菇贮藏的适宜条件和实用技术研究[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2010
- [17] Wei S, Bai YJ, Zhang L, et al. Effect of temperature factor on activities of antioxidant enzymes in *Pleurotus ferulae* lenzi[J]. Storage and Process, 2012, 12(4): 10-13 (in Chinese)  
魏帅, 白羽嘉, 张丽, 等. 温度因子对阿魏菇菌丝抗氧化酶活性的影响[J]. 保鲜与加工, 2012, 12(4): 10-13
- [18] Wang SH, Zhang H, Cheng QY, et al. Effect of chilling stress on the expression of antioxidative enzymes in *Volvariella volvacea* mycelia[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2009, 30(5): 593-597 (in Chinese)  
王松华, 张华, 陈庆瑜, 等. 低温胁迫对草菇菌丝抗氧化酶表达的影响[J]. 热带作物学报, 2009, 30(5): 593-597
- [19] Gao JJ, Qin AG, Yu XC. Effect of grafting on cucumber leaf SOD and CAT gene expression and activities under low temperature stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(1): 213-217 (in Chinese)  
高俊杰, 秦爱国, 于贤昌. 低温胁迫下嫁接对黄瓜叶片 SOD 和 CAT 基因表达与活性变化的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(1): 213-217
- [20] Zhao SC, Sun JW, Ma YZ, et al. Effects of cadmium on reactive oxygen species metabolism, activities and gene expression of superoxide dismutase and catalase in maize (*Zea mays*) seedling[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(10): 3025-3032 (in Chinese)  
赵世成, 孙静文, 马有志, 等. 镉对玉米幼苗活性氧代谢、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性及其基因表达的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3025-3032
- [21] Romero-Puertas MC, Palma JM, Gómez M, et al. Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants[J]. Plant, Cell and Environment, 2002, 25(5): 677-686
- [22] Liang GQ, Sun JW, Zhou W, et al. Effect of calcium on activities and gene expressions of superoxide dismutase and catalase in apple fruits[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2011, 17(2): 438-444 (in Chinese)  
梁国庆, 孙静文, 周卫, 等. 钙对苹果果实超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性及其基因表达的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(2): 438-444
- [23] Lu N. Study on antioxidant system of *gracilaria lemaneiformis* under high-temperature stress[D]. Qingdao: Master's Thesis of Ocean University of China, 2012 (in Chinese)  
鹿宁. 高温胁迫下龙须菜抗氧化系统的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 2012