



研究报告

草菇过氧化氢酶基因(*VvCAT1*)异源表达及耐温度胁迫功能分析

杨焕玲 常婷婷 赵妍* 游华芳 查磊 李正鹏 仝宗军 陈明杰*

上海市农业科学院食用菌研究所 上海 201403

摘要:【背景】过氧化氢酶(Catalase, CAT)参与真菌的生长发育, 逆境胁迫时保护真菌免受氧化损伤。【目的】实现草菇过氧化氢酶基因(*VvCAT1*)的异源表达, 分析 *VvCAT1* 耐温度胁迫的功能。

【方法】克隆 *VvCAT1*, 构建过表达载体 pBAR GPE1/*VvCAT1*, 转化到大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌株 Stbl3 中, 异源表达草菇过氧化氢酶。测定温度胁迫后重组菌(pBAR GPE1/*VvCAT1*/Stbl3)与对照菌(pBAR GPE1/Stbl3)的过氧化氢酶活性和生长情况, 验证 *VvCAT1* 的功能。【结果】重组菌的 CAT 酶活性显著提高, 生长情况显著优于对照菌。【结论】*VvCAT1* 的导入及表达显著提高了大肠杆菌 Stbl3 的耐温度胁迫功能。

关键词: 草菇, 过氧化氢酶, 异源表达, 耐温性

Expression of catalase gene (*VvCAT1*) from *Volvariella volvacea* in *Escherichia coli* and its temperature toleranceYANG Huanling CHANG Tingting ZHAO Yan* YOU Huafang ZHA Lei
LI Zhengpeng TONG Zongjun CHEN Mingjie*

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

Abstract: [Background] Catalase (CAT) is involved in the growth and development of fungi and protects them from oxidative damage in the event of stress. [Objective] The *VvCAT1* gene from *Volvariella volvacea* was expressed in *Escherichia coli* Stbl3 and its temperature tolerance was characterized. [Methods] *VvCAT1* was cloned to construct a recombinant plasmid pBAR GPE1/*VvCAT1* which was then transformed into Stbl3 to yield a recombinant strain expressing catalase. Catalase activity and growth of the recombinant strain (pBAR GPE1/*VvCAT1*/Stbl3) and the control strain (pBAR GPE1/Stbl3) were measured to verify the temperature tolerance. [Results] The recombinant strain exhibited stronger heat and cold tolerance than the control with increased catalase activity and better growth. [Conclusion] The transgenesis and expression of *VvCAT1* significantly improved the heat and cold tolerance of *E. coli* Stbl3.

Keywords: *Volvariella volvacea*, catalase, heterologous expression, temperature tolerance

Foundation item: Shanghai Agricultural Applied Technology Development Program (2020-02-08-00-12-F01479)

*Corresponding authors: E-mail: ZHAO Yan: jiidan289@126.com; CHEN Mingjie: mjchen@saas.sh.cn

Received: 24-02-2021; Accepted: 29-04-2021; Published online: 21-06-2021

基金项目: 上海市科技兴农项目(2020-02-08-00-12-F01479)

*通信作者: E-mail: 赵妍: jiidan289@126.com; 陈明杰: mjchen@saas.sh.cn

收稿日期: 2021-02-24; 接受日期: 2021-04-29; 网络首发日期: 2021-06-21

草菇[*Volvariella volvacea* (Bull.) Singer]属于高温型食用菌, 32–35 °C 为最适生长温度, 在 0–4 °C 的冷藏条件下出现低温自溶现象^[1]。草菇由于不耐低温, 产生了菌种低温保藏、子实体的贮藏和运输等一系列问题, 严重限制了草菇产业的快速发展^[2]。

过氧化氢酶(Catalase, CAT)是一种广泛存在于生物体内的抗氧化酶, 主要分布在细胞质、乙醛酸循环体和过氧化物酶体中, 少数存在于线粒体内^[3-4]。在生物体遭受胁迫时, 细胞膜上的受体物质接收并传递胁迫信号, 胞内的活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)含量会迅速增加, 生物体内的 ROS 清除系统通过抗氧化酶来调控胞内 ROS 的平衡。H₂O₂ 作为主要的活性氧物质, 浓度过高时则会导致氧化损伤, 引起细胞程序性死亡。CAT 是分解 H₂O₂ 的主要途径, 在生物抗逆性上起到重要作用^[5-7]。

本研究克隆并异源表达了草菇过氧化氢酶 *VvCAT1* 基因, 检测重组菌和对照菌在热胁迫及冷胁迫下菌株的酶活性及生长情况差异, 验证 *VvCAT1* 基因的功能, 以期对草菇抗逆定向育种及子实体保鲜提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

草菇主要栽培品种 V23 保藏于上海市农业科学院食用菌研究所。

大肠杆菌(*Escherichia coli*)感受态细胞(Stbl3)和过表达载体 pBAR GPE1 均购于吉满生物科技(上海)有限公司, 抗性基因是氨苄青霉素(Ampicillin, Amp), 载体全长 5 518 bp。

1.2 构建过表达重组菌

在草菇全基因组信息中进行 BLAST 搜索, 获得草菇的 *VvCAT1* 基因序列, 详情参见姜威^[8]的方法。将 *VvCAT1* 基因序列整合到经 *Bam*H I 和 *Eco*R I 双酶切后的 pBAR GPE1 载体上, 详情参考杨焕玲等^[9]的转化方法, 构建 pBAR GPE1/*VvCAT1*/Stbl3 重组菌和 pBAR GPE1/Stbl3 对照菌。取 50 μL 重组菌和对照菌液, 分别涂布到 LB 固体培养基(含有

100 μg/mL Amp)上, 37 °C 培养过夜。挑取单菌落, 接种到 LB 液体培养基(含有 100 μg/mL Amp)中, 37 °C、220 r/min 培养过夜, 进行菌液 PCR 验证。

在 NCBI 网站上使用 Primer-BLAST 在线设计 PCR 引物, *VvCAT1* 基因的 PCR 正向引物序列为: 5'-ATGAGCGGTGTAGCCTCTACTGC-3'; 反向引物序列为: 5'-TTAGTACGCGACACCACTAGTCAA T-3', 引物由上海擎科生物科技有限公司合成。PCR 反应体系和条件参照杨焕玲等^[9]的方法。PCR 扩增产物送上海擎科生物科技有限公司进行测序, 将测序结果与 *VvCAT1* 进行序列比对, 验证重组菌是否构建成功。

1.3 目的蛋白质的表达

将重组菌菌液接种于 100 mL LB 液体培养基(含有 100 μg/mL Amp)中, 在转速为 37 °C、220 r/min 恒温摇床上培养 2.5–3.0 h, 在 600 nm 处菌液的吸光度值为 0.6 时, 加入 IPTG 使终浓度达到 1 mmol/L, 继续诱导培养 6 h。对照菌的操作采用相同的方法。蛋白质的提取方法参考杨焕玲等^[9], SDS-PAGE 操作参考辛苗苗^[10], 使用 8% 分离胶检测 *VvCAT1* 蛋白质的相对表达量。为量化重组菌表达 *VvCAT1* 蛋白质情况, 使用 ImageJ 软件进行灰度分析。

1.4 耐温度胁迫功能分析

分别取 100 μL 的重组菌液和对照菌液, 接种到 LB 液体培养基(含有 100 μg/mL Amp)中, 37 °C、220 r/min 恒温摇床上培养 2.5–3.0 h, 在 600 nm 处菌液的吸光度值为 0.6 时, 加入 IPTG 使终浓度达到 1 mmol/L, 继续诱导培养 6 h。分别进行耐热性及耐冷性实验, 由于 CAT 可以分解 H₂O₂, 使反应溶液在 240 nm (H₂O₂ 有特征吸收峰)下的吸光度随反应时间下降, 根据吸光度的变化率计算出 CAT 活性^[11]; 参考邓婷婷等^[12]的方法, 测定胁迫处理后大肠杆菌在 600 nm 处的吸光度值, 分析其生长情况。

1.4.1 耐热性实验

将重组菌和对照菌转入 50 °C 的培养箱中, 分别热胁迫 0、2、4、6、8、10 h。收集不同热胁迫

处理的菌液,详细步骤参考杨焕玲^[13]的方法,分别使用紫外分光光度法测定粗酶液在 240 nm 处的吸光度值,使用二喹啉甲酸(Bicinchoninic Acid, BCA)法检测样品的蛋白质浓度,用样本蛋白浓度计算胁迫下重组菌与对照菌的 CAT 酶活性。测定热胁迫处理后重组菌和对照菌在 600 nm 处的吸光度值,分析其生长情况,每个处理设置 3 个生物学重复。

1.4.2 耐冷性实验

将重组菌和对照菌转入 4 °C 冰箱中,分别冷胁迫 0、2、4、6、8、10 d。冷胁迫处理后重组菌和对照菌的测定方法同 1.4.1。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增检测 *VvCAT1*

草菇过氧化氢酶基因(*VvCAT1*)全长 2 274 bp,使用设计的引物 PCR 扩增重组菌中 *VvCAT1* 基因片段,1%琼脂糖凝胶电泳检测结果显示,存在与草菇过氧化氢酶基因的片段大小(2 274 bp)相符的单一一条带(图 1),将 PCR 扩增产物进行测序,结果与 *VvCAT1*

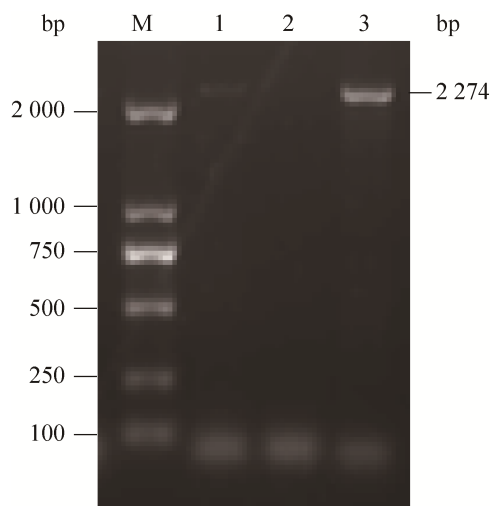


图 1 PCR 扩增大肠杆菌 *VvCAT1* 的电泳图谱

Figure 1 Electrophoresis picture of *VvCAT1* by PCR in *Escherichia coli*

注: M: D2000 Marker; 1: 对照菌; 2: 大肠杆菌 Stbl3; 3: 重组菌

Note: M: D2000 Marker; 1: Control strain; 2: *E. coli* Stbl3; 3: Recombinant strain

基因序列保持一致,说明过表达 *VvCAT1* 重组菌构建成功。

2.2 SDS-PAGE 检测蛋白质表达情况

使用 ExPASy ProtParam 工具在线预测 *VvCAT1* 蛋白的分子量、等电点、稳定系数、疏水性等基本理化性质。编码草菇 *VvCAT1* 的氨基酸数为 757 个,预测蛋白质分子量为 84.03 kD,等电点 6.40,不稳定系数为 29.88,属于稳定蛋白;疏水性系数为 -0.370,表明该蛋白具有亲水性。对照菌与重组菌蛋白质 SDS-PAGE 电泳结果显示(图 2),在相对分子质量 70–100 kD 之间,重组菌相较于对照菌出现一条明显的蛋白质条带,与理论上 *VvCAT1* 蛋白质的相对分子质量 84.03 kD 吻合。使用 ImageJ 软件进一步做灰度分析,泳道 1–4 目的蛋白的灰度值如图 3 所示,重组菌的灰度值显著高于对照菌($P < 0.05$),说明重组菌成功表达了草菇 *VvCAT1* 蛋白质。

2.3 草菇 *VvCAT1* 异源表达的耐热胁迫能力分析

采用紫外分光光度法测定过氧化氢酶(CAT)的活性^[13],在热胁迫(50 °C)过程中,重组菌的 CAT 酶活力要显著高于对照菌,两菌株的 CAT 酶活性基本呈上升趋势(2 h 除外);重组菌和对照菌在未受到热胁迫时, CAT 酶活力最低,分别为 0.36、0.21 nmol/(min·mg-protein);重组菌在热胁迫 2 h 和 10 h 时, CAT 酶活性最高,均为 1.53 nmol/(min·mg-protein) (图 4)。通过测定大

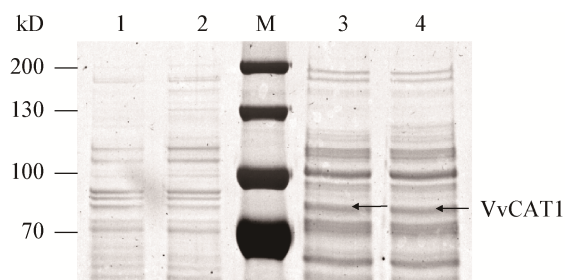


图 2 重组菌和对照菌表达 *VvCAT1* 蛋白质的 SDS-PAGE 图谱

Figure 2 SDS-PAGE picture of *VvCAT1* expressed in the recombinant and the control strains

注: 1、2: 对照菌; M: 蛋白质标记; 3、4: 重组菌

Note: 1, 2: Control strain; M: Protein Marker; 3, 4: Recombinant strain

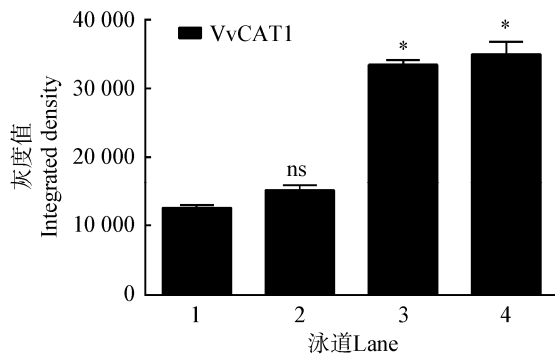


图3 SDS-PAGE 目的蛋白灰度值

Figure 3 Integrated density of target protein in SDS-PAGE

注: *: 具有统计学意义($P < 0.05$); ns: 无显著性差异($P > 0.05$)Note: *: Significant difference at $P < 0.05$; ns: No significant difference at $P > 0.05$

肠杆菌在 600 nm 下的吸光度值^[9], 比较重组菌和对照菌的生长情况(图 5)。在整个热胁迫阶段(2–10 h), 重组菌吸光度值要显著高于对照菌; 在受到短时间(4 h)热胁迫时, 重组菌和对照菌的生长未受到严重影响, 呈上升趋势; 随着热胁迫时间的延长, 两菌的生长速度受到明显抑制。重组菌的 CAT 酶活性与生长均显著优于对照菌, 表明 *VvCAT1* 基因的过表达显著提高了大肠杆菌 Stb13 的耐热性。

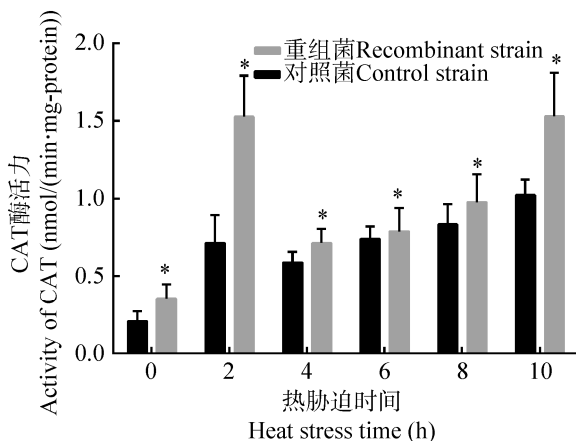
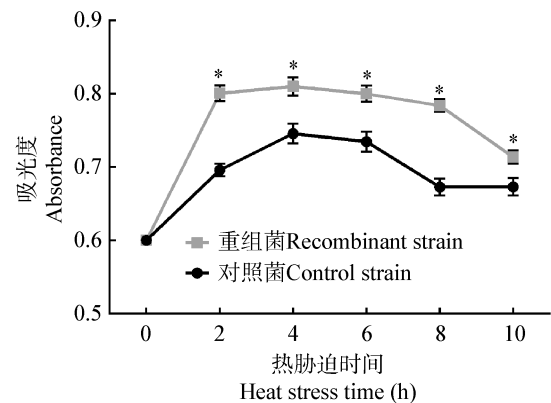
图4 重组菌和对照菌在热胁迫下过氧化氢酶活性的比较
Figure 4 Comparison of CAT activity in the recombinant and the control strains under heat stress注: *: 具有统计学意义($P < 0.05$)Note: *: Significant difference at $P < 0.05$ 

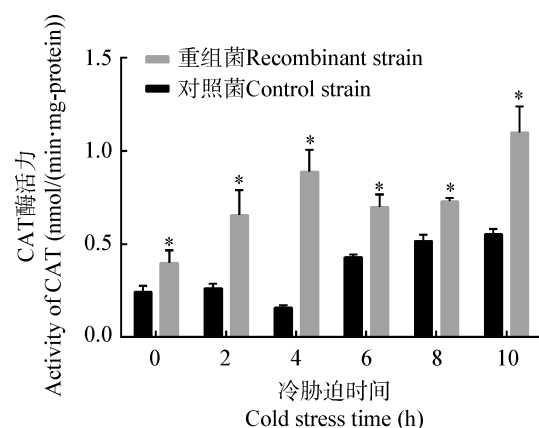
图5 重组菌和对照菌在热胁迫下生长情况的比较

Figure 5 Comparison of growth of the recombinant and the control strains under heat stress

注: *: 具有统计学意义($P < 0.05$)Note: *: Significant difference at $P < 0.05$

2.4 草菇 *VvCAT1* 异源表达的耐冷胁迫能力分析

通过测定冷胁迫(4 °C)过程中重组菌和对照菌过氧化氢酶(CAT)的活性, 重组菌的 CAT 酶活力显著高于对照菌; 两菌株的 CAT 酶活力在整个冷胁迫过程中基本呈现上升趋势; 重组菌在未受到冷胁迫时 CAT 酶活力最低, 为 0.40 nmol/(min·mg-protein); 重组菌在冷胁迫 10 h 时 CAT 酶活性最高, 为 1.10 nmol/(min·mg-protein) (图 6)。在整个冷胁迫过

图6 重组菌和对照菌在冷胁迫下过氧化氢酶活性的比较
Figure 6 Comparison of CAT activity in the recombinant and the control strains under cold stress注: *: 具有统计学意义($P < 0.05$)Note: *: Significant difference at $P < 0.05$

程(2–10 d)中, 重组菌与对照菌的吸光度值呈现上升趋势; 在冷胁迫时重组菌和对照菌持续缓慢生长, 基本不受影响(图 7)。重组菌的 CAT 酶活性与生长情况均优于对照菌, 表明 *VvCAT1* 基因的过表达提高了大肠杆菌 *Stb13* 的耐冷性。

3 讨论与结论

过氧化氢酶在生物逆境胁迫防御应答、生长发育等生理过程中起着重要作用, 表达活性受温度、光照、干旱及其他病原微生物等诸多因素的影响。

在农业生产领域上, 通常采用提高抗氧化酶活性和增强 ROS 代谢的方法来提高植物的耐受性。为了培育低温水稻, 将小麦 *CAT* 转入水稻, 转基因水稻表现出较高的 *CAT* 活性, 提高了水稻的耐低温能力^[14]; 为了提高棉花的抗旱性, 将 *KatG* 转入棉花中, 转基因棉花具有较好的生长和生理优势^[15]; 将火龙果 *CAT* 转化到烟草中, 提高了烟草抵抗干旱和低温胁迫的能力^[16]; 将玉米 *CAT2* 转入烟草中, 可以减轻除草剂对烟草的毒性^[17]; 红薯中 *CAT2* 在大肠杆菌和酿酒酵母中过表达后, 提高了二者的耐盐和耐旱能力^[18]; 甘蔗上分离的 *ScCAT1* 在甘蔗鞭孢堆黑粉菌 (*Sporisorium scitamineum*) 侵染、植物激素(SA、MeJA 和 ABA)

处理、氧化胁迫(H_2O_2)、重金属胁迫($CuCl_2$)和高渗透胁迫(PEG 和 NaCl)下表达量均有显著上升, *ScCAT1* 在大肠杆菌中过表达后, 显著提高了大肠杆菌对 $CuCl_2$ 、 $CdCl_2$ 和 NaCl 的抗性, *ScCAT1* 对生物胁迫和非生物胁迫积极响应, 参与了保护甘蔗免受活性氧化剂的环境刺激^[19]。在植物中过氧化氢酶基因的遗传转化比较成熟, 但现阶段食用菌中 *CAT* 的研究相对较少, 主要集中于胁迫条件下酶活性和基因表达量的分析。金针菇(*Flammulina velutipes*)、杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)的菌丝在低温和高温胁迫时, *CAT* 活性都呈现先上升后下降的趋势, 真姬菇(*Hypsizygus marmoreus*)的菌丝在低温下 *CAT* 活性小幅上升, 高温下 *CAT* 活性先小幅下降然后保持平稳^[20]; 阿魏菇(*Pleurotus ferulae*)菌丝在低温胁迫时, *CAT* 活性先上升后下降^[21]; 白灵菇[*Pleurotus eryngii* subsp. *tuoliensis* (Bailinggu)]菌丝低温处理后, *CAT* 表达量显著上升^[22]; 糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)的 *CAT* 在高温胁迫和生长发育过程中表现出显著差异性, 在高温胁迫响应中发挥重要作用, *CAT* 过表达在一定程度上增强菌丝对 H_2O_2 耐受性^[23–24]。

本课题组长期从事草菇育种、栽培及保鲜相关工作, 以期培育草菇耐低温新品种并延长草菇低温保鲜时间, 为草菇产业的发展奠定基础。前期使用草菇 VH3 (较耐低温菌株)和 V23 (低温敏感型菌株)进行低温胁迫实验, 结果显示, 两菌株的 *VvCAT1* 基因表达在低温胁迫过程中整体呈下降趋势, 但 VH3 的 *VvCAT1* 的相对表达量显著高于 V23, *CAT* 的活性在低温胁迫期间总体呈上升的趋势, 而且 VH3 的 *CAT* 活性上升速度高于 V23, 表明 *CAT* 能够更有效地清除 H_2O_2 , *VvCAT1* 的相对高表达可能提高了草菇耐低温性^[8,25]。在此基础上, 本文将 *VvCAT1* 异源表达并验证其基因功能, 研究结果表明 *VvCAT1* 的导入及表达显著提高了大肠杆菌 *Stb13* 的耐热性和耐冷性, 证明 *VvCAT1* 在草菇低温胁迫防御应答中起到重要作用。这为进一步改善草菇低温自溶问题提供了方向, 也为草菇抗逆育种及延长草菇保鲜时间提供了一定的理论依据。

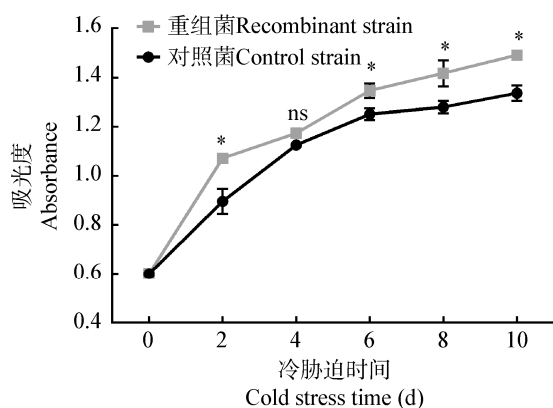


图 7 重组菌和对照菌在冷胁迫下生长情况的比较

Figure 7 Comparison of growth of the recombinant and the control strains under cold stress

注: *: 具有统计学意义($P < 0.05$); ns: 无显著性差异($P > 0.05$)

Note: *: Significant difference at $P < 0.05$; ns: No significant difference at $P > 0.05$

REFERENCES

- [1] Lü BB, Wu X, Mo Q, Sun Y, Jiang W, Huang YN, Wu GG, Song LL, Wang JB, Li P, et al. Investigation of the key potential pathway involved in the early response to low temperature challenge in *Volvariella volvacea*[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(5): 1074-1086 (in Chinese)
吕贝贝, 吴潇, 莫芹, 孙宇, 蒋玮, 黄艳娜, 武国干, 宋丽莉, 王金斌, 李鹏, 等. 草菇低温胁迫初期应答关键通路的探究[J]. *菌物学报*, 2021, 40(5): 1074-1086
- [2] Liu Z, Zhang K, Lin JF, Guo LQ. Breeding cold tolerance strain by chemical mutagenesis in *Volvariella volvacea*[J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 130(1): 18-24
- [3] Hu LF, Yang YG, Jiang LW, Liu SQ. The catalase gene family in cucumber: genome-wide identification and organization[J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2016, 39(3): 408-415
- [4] Zámocký M, Gasselhuber B, Furtmüller PG, Obinger C. Molecular evolution of hydrogen peroxide degrading enzymes[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2012, 525(2): 131-144
- [5] Chen JF, Wang GN, Cheng SM. Progress about catalase function in plant stress reactions[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, 28(1): 188-193 (in Chinese)
陈金峰, 王官南, 程素满. 过氧化氢酶在植物胁迫响应中的功能研究进展[J]. *西北植物学报*, 2008, 28(1): 188-193
- [6] Saxena I, Srikanth S, Chen Z. Cross talk between H₂O₂ and interacting signal molecules under plant stress response[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 570
- [7] Liu YF, Wang WW, Zu YX, Mei Y, Zheng JQ, Wu YC, Guo J, Chen ZB. Research progress on the effects of catalase on plant stress tolerance[J]. *Barley and Cereal Sciences*, 2019, 36(1): 5-8 (in Chinese)
刘云芬, 王薇薇, 祖艳侠, 梅隼, 郑佳秋, 吴永成, 郭军, 陈中兵. 过氧化氢酶在植物抗逆中的研究进展[J]. *大麦与谷类科学*, 2019, 36(1): 5-8
- [8] Jiang W. Analysis of gene expression level and activity of key antioxidant enzymes from *Volvariella volvacea* in response to cold stress[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2014 (in Chinese)
姜威. 低温胁迫下草菇抗氧化应答反应中关键酶的表达量变化及活性研究[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2014
- [9] Yang HL, You HF, Zhao Y, Pattana K, Chang TT, Yu CX, Chen MJ. Heterologous expression of manganese superoxide dismutase from *Volvariella volvacea* in *E. coli* and characterization of its stress tolerance[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2020, 27(4): 51-58 (in Chinese)
杨焕玲, 游华芳, 赵妍, Kakumyan Pattana, 常婷婷, 余昌霞, 陈明杰. 草菇锰超氧化物歧化酶基因异源表达条件优化及其耐胁迫功能分析[J]. *食用菌学报*, 2020, 27(4): 51-58
- [10] Xin MM. The gene expression and function study of hydrophobin and heat shock proteins from *Lentinula edodes*[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2016 (in Chinese)
辛苗苗. 高温胁迫下香菇疏水蛋白和热激蛋白的转录表达量变化及功能研究[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2016
- [11] Cooke B. Methods of enzymatic analysis (third english edition) by HU Bergmeyer[J]. *Biochemical Education*, 1988, 16: 183-183
- [12] Deng TT, Li J, Ma G, Wang XL, Zhao XL, Zhang FW, Qiao DR, Cao Y. Identification of the function of superoxide dismutase gene from *Dunaliella salina* in SOD deleted strain K12[J]. *Journal of Sichuan University: Natural Science Edition*, 2007, 44(1): 176-180 (in Chinese)
邓婷婷, 李静, 马根, 王晓林, 赵向丽, 张飞伟, 乔代蓉, 曹毅. 盐生杜氏藻锰超氧化物歧化酶(MnSOD)在大肠杆菌中的功能鉴定[J]. *四川大学学报(自然科学版)*, 2007, 44(1): 176-180
- [13] Yang HL. Evaluation and application of high temperature resistant mycelium of *Lentinula edodes*[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2018 (in Chinese)
杨焕玲. 香菇耐高温菌株的评价与应用[D]. 南京: 南京农业大学硕士论文, 2018
- [14] Li EY. Introducing wheat catalase to cultivate low temperature tolerance rice[J]. *Biotechnology Information*, 2001(3): 48 (in Chinese)
李恩义. 导入小麦过氧化氢酶培育耐低温水稻[J]. *生物技术通报*, 2001(3): 48
- [15] Cai YZ, Zhu JB, Hao XY, Wang AY, Xu DX. Drought resistance of *KatG* transgenic cotton[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2013, 22(12): 56-61 (in Chinese)
蔡永智, 祝建波, 郝晓云, 王爱英, 徐登献. 转过氧化氢酶基因 *KatG* 棉花的抗旱性[J]. *西北农业学报*, 2013, 22(12): 56-61
- [16] Ge F. Genetic transformation and functional characterization of pitaya *CAT* gene in tobacco[D]. Guiyang: Master's Thesis of Guizhou University, 2016 (in Chinese)
葛菲. 火龙果 *CAT* 基因在烟草中的遗传转化及功能分析[D]. 贵阳: 贵州大学硕士学位论文, 2016
- [17] Polidoros AN, Mylona PV, Scandalios JG. Transgenic tobacco plants expressing the maize *Cat2* gene have altered catalase levels that affect plant-pathogen interactions and

- resistance to oxidative stress[J]. Transgenic Research, 2001, 10(6): 555-569
- [18] Yong B, Wang XY, Xu P, Zheng HY, Fei XT, Hong ZX, Ma QQ, Miao YZ, Yuan XH, Jiang YS, et al. Isolation and abiotic stress resistance analyses of a catalase gene from *Ipomoea batatas* (L.) lam[J]. BioMed Research International, 2017, 2017: 6847532
- [19] Su YC, Guo JL, Ling H, Chen SS, Wang SS, Xu LP, Allan AC, Que YX. Isolation of a novel peroxisomal catalase gene from sugarcane, which is responsive to biotic and abiotic stresses[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e84426
- [20] Guan DP. Study on physiological change of mycelium of various edible fungi under environment stress[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2004 (in Chinese)
管道平. 环境胁迫下部分食用菌菌丝酶活性变化的研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2004
- [21] Zhang GL. Effect of low temperature treatment on physiological biochemical indexes and nutrient accumulation in *Pleurotus ferulae* mycelia[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang Agricultural University, 2013 (in Chinese)
张国良. 低温处理对阿魏菇菌丝体生理生化及营养积累的影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学硕士学位论文, 2013
- [22] Fu YP, Liang Y, Dai YT, Yang CT, Duan MZ, Zhang Z, Hu SN, Zhang ZW, Li Y. *De novo* sequencing and transcriptome analysis of *Pleurotus eryngii* subsp. *tuoliensis* (bailinggu) mycelia in response to cold stimulation[J]. Molecules, 2016, 21(5): 560
- [23] Wang LN. Characterization and function analysis of catalase genes in *Pleurotus ostreatus*[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019 (in Chinese)
王丽宁. 糙皮侧耳过氧化氢酶基因特征分析和功能研究[D]. 北京: 中国农业科学院博士学位论文, 2019
- [24] Wang LN, Wu XL, Gao W, Zhao MR, Zhang JX, Huang CY. Differential expression patterns of *Pleurotus ostreatus* catalase genes during developmental stages and under heat stress[J]. Genes, 2017, 8(11): 335
- [25] Zhao Y, Lin F, Jiang W, Yan SY, Chen MJ. Sequence analysis of *cat1* and its relative expression in *Volvariella volvacea* under low temperature stress[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(7): 196-199,275 (in Chinese)
赵妍, 林锋, 姜威, 颜素雅, 陈明杰. 草菇 *cat1* 基因序列分析及其低温胁迫下定量表达研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(7): 196-199,275