福建农业学报 2023,38（7）:833−841 http://www.fjnyxb.cn
Fujian Journal of Agricultural Sciences doi: 10.19303/j.issn.1008-0384.2023.07.009

刘晓瑜，肖冬来，马璐，等. 转录组测序分析天冬氨酸和谷氨酸对广叶绣球菌生长的影响［J］. 福建农业学报，2023，38（7）：833−841.
LIU X Y, XIAO D L, MA L, et al. Transcriptome Analysis on Effect of Glutamic and Aspartic Acids on Growth of *Sparassis latifolia*［J］. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*，2023，38（7）：833−841.

转录组测序分析天冬氨酸和谷氨酸对广叶绣球菌生长的影响

刘晓瑜，肖冬来*，马　璐，杨　驰，林　辉，江晓凌

（福建省农业科学院食用菌研究所，福建　福州　350014）

摘　要:【目的】 通过转录组测序分析添加不同氮源培养后广叶绣球菌基因差异表达情况，旨在探究氨基酸调节基质降解的分子机理，为其高效生产提供理论依据。**【方法】** 以硫酸铵、鱼粉蛋白胨、天冬氨酸和谷氨酸为氮源，测定菌丝生长速度并利用转录组测序技术对不同氮源诱导下广叶绣球菌进行基因差异表达分析。**【结果】** 天冬氨酸和谷氨酸相对于硫酸铵、鱼粉蛋白胨可显著促进菌丝生长（$P<0.01$）；GO 功能富集分析显示差异基因主要富集在氧化还原酶活性、铁离子跨膜转运蛋白活性和铁离子的还原和转运同化等；KEGG 通路富集分析显示，富集度较高的通路主要有色氨酸代谢、花生四烯酸代谢和氮代谢等。差异基因中溶血素蛋白 ostreolysin A6、GroES 类似蛋白和 6-甲基水杨酸脱羧酶等基因在天冬氨酸或谷氨酸诱导下表达量变化倍数较大（$P<0.01$）。**【结论】** 天冬氨酸和谷氨酸可能通过促进绣球菌氧化还原酶活性及铁离子代谢过程，提高其基质利用能力。研究结果为进一步研究广叶绣球菌木质纤维素降解机制及栽培生理提供理论依据。

关键词：广叶绣球菌；氨基酸；转录组；谷氨酸；天冬氨酸

中图分类号： S646　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1008-0384（2023）07−0833−09

Transcriptome Analysis on Effect of Glutamic and Aspartic Acids on Growth of *Sparassis latifolia*

LIU Xiaoyu, XIAO Donglai*, MA Lu, YANG Chi, LIN Hui, JIANG Xiaoling

（*Institute of Edible Fungi*, *Fujian Academy of Agricultural Sciences*, *Fuzhou*, *Fujian* 350014, *China*）

Abstract:【Objective】 Effects of differential expression genes (DEGs) of *Sparassis latifolia* cultured with varied nitrogen sources on substrate degradation were analyzed for efficient cultivation of the mushroom.【Method】 Cultured on substrates of varied nitrogen sources, such as ammonium sulfate (As), fish peptone (Pep), aspartic acid (Asp), and glutamic acid (Glu), *S. latifolia* mycelium growth was observed. Transcriptomes of DEGs were determined.【Result】 Of the various nitrogen sources, Asp and Glu significantly promoted the mycelial growth ($P<0.01$). According to a GO enrichment analysis, the DEGs in the mushrooms were mainly related to the activities of oxidoreductase, iron ion transmembrane transport, and iron assimilation by reduction and transport. And the KEGG showed their involvement in the metabolisms of tryptophan, arachidonic acid, and nitrogen. The expressions of the ostreolysin A6, GroES-like protein, and 6-methylsalicylic acid decarboxylase genes were significantly altered by the presence of Asp and Glu ($P<0.01$).【Conclusion】 The use of Asp and Glu as a nitrogen source promoted the substrate utilization through the heightened oxidoreductase activity and iron metabolism in *S. latifolia*. Hence, the addition would facilitate an efficient mushroom cultivation.

Key words: *Sparassis latifolia*；transcriptome；amino acid；glutamic acid；aspartic acid

收稿日期：2023−04−23　　**修回日期：**2023−05−11

作者简介：刘晓瑜（1991 —），女，硕士，研究实习员，主要从事食用菌栽培生理研究，E-mail：liu.xiaoyu1991@163.com

* 通信作者：肖冬来（1981 —），男，博士，副研究员，主要从事食用菌栽培生理研究，E-mail：xdljiangsu@163.com

基金项目：福建省科技计划公益类专项（2020R1035005）；福建省自然科学基金（2021J01505）；福建省农业高质量发展超越“5511”协同创新工程项目（XTCXGC2021007）

0 引言

【研究意义】广叶绣球菌（*Sparassis latifolia*）作为一种具有极高营养和药用价值的珍稀食用菌[1−3]，已在福建、江苏、浙江和陕西等地实现了工厂化栽培。目前，绣球菌的研究主要集中于生物学特性、葡聚糖及其活性等方面[1−2, 4−5]。然而，国内的工厂化生产模式中，从接种至采摘需要 90 d 左右，而其生物学效率仅为 65% 左右。此外，胞外酶活性与基质降解速率的变化具有一定的相关性，在一定程度上可以反映食用菌的生长速度和生物转化率[6]。因此，通过进一步解析特定营养因子对胞外酶活性和基质降解速率的影响，或能提高绣球菌生物学效率，缩短工厂化栽培周期。【前人研究进展】食用菌栽培添加剂在生产上可提高产量，以氨基酸为主要成分的食用菌添加剂在香菇（*Lentinula edodes*）、草菇（*Volvariella volvacea*）、双孢蘑菇（*Agaricus bisporus*）等食用菌提高产量、缩短栽培周期方面具有一定的效果[7−9]。不同氨基酸氨对真菌胞外酶活性的影响存在差异，例如 DL-蛋氨酸、DL-色氨酸、甘氨酸和 DL-缬氨酸可促进黑蛋巢菌（*Cyathus bulleri*）漆酶的产生，但 L-半胱氨酸则完全抑制漆酶的产生[10]。DL-正亮氨酸、L-亮氨酸、DL-异亮氨酸、L-赖氨酸单盐酸盐和 DL-β-苯丙氨酸可以提高链霉菌（*Streptomyces* sp.）木聚糖酶和果胶酶的产量约 3 倍，且复合使用 DL-正亮氨酸, L-亮氨酸, DL-异亮氨酸可以提升酶的产量约 6 倍[11]。半胱氨酸对烟曲霉（*Aspergillus fumigatus*）内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶、β-葡萄糖苷酶和木聚糖酶的产生具有促进作用，而蛋氨酸对胞外酶的产生则具有一定的抑制作用[12]。此外，在以半胱氨酸为单一氮源的处理中，烟曲霉的分泌蛋白中可检测出大量的过氧化氢酶，而在以蛋氨酸和硫酸铵为单一氮源的处理中则未检测出过氧化氢酶[12]。过氧化氢酶与羟基自由基的产生有关，可能通过芬顿反应参与了木质素的及纤维素解聚。【本研究切入点】在广叶绣球菌生长发育过程中，氮源是必不可少的，特别是氮源的种类和比例对绣球菌菌丝生长和子实体生长发育至关重要。[5, 13]。氨基酸作为重要的氮源因子，可以刺激多种真菌胞外酶的产生，但相关机制尚不清楚。厘清氨基酸如何通过调节酶活变化和基质降解速率来促进菌丝生长，能够为绣球菌营养添加提供参考。【拟解决的关键问题】以 PDB 为基础培养基，分别添加无机氮源硫酸铵（As）、有机复合氮源鱼粉蛋白胨（Pep）、谷氨酸（Glu）和天冬氨酸（Asp），通过转录组测序分析氨基酸对广叶绣球菌基质降解相关基因表达的影响，旨在探究氨基酸调节广叶绣球菌降解机制的分子机理，为其高效生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌株和试验材料

广叶绣球菌闽绣 1 号由福建省农业科学院食用菌研究所保藏。马铃薯葡萄糖肉汤培养基（potato dextrose broth，PDB）购自美国 BD 公司，鱼粉蛋白胨购自国药集团化学试剂有限公司，谷氨酸和天冬氨酸购自北京索莱宝科技有限公司。

PDA 培养基：PDB 粉末 24 g·L^{-1}，琼脂 15 g·L^{-1}，121 ℃ 高压灭菌 20 min。液体种子培养基：PDB 粉末 24 g·L^{-1}，121 ℃ 高压灭菌 20 min。氮源平板试验培养基：PDB 粉末 24 g·L^{-1}，琼脂 15 g·L^{-1}，121 ℃ 高压灭菌 20 min，温度降至 50 ℃ 后分别加入经 0.22 μm 滤膜过滤除菌的硫酸铵、谷氨酸、天冬氨酸、鱼粉蛋白胨，终质量浓度为 1 g·L^{-1}。氮源诱导培养基：氮源平板试验培养基配方中不添加琼脂。

1.2 菌丝生长测定

将活化后的广叶绣球菌菌块接种于不同氮源培养基中[13]，25 ℃ 黑暗培养 25 d，利用十字交叉法测定菌丝生长速度，每个试验设 4 次重复。

1.3 不同氮源液体培养

将经 PDA 活化的绣球菌菌块接种于 100 mL 液体种子培养基，25 ℃，150 r·min^{-1} 振荡培养 9 d，过滤去除培养基收集菌丝体，加入 100 mL 无菌水，匀浆后取 5 mL 加入 100 mL 氮源诱导培养基，25 ℃，150 r·min^{-1} 振荡培养 6 d 后收集菌丝体，液氮速冻后保藏于−80 ℃ 超低温冰箱。每个处理组重复 3 次。

1.4 转录组测序

使用 TRIzol 总 RNA 提取试剂盒提取不同氮源培养条件下的绣球菌总 RNA。总 RNA 经纯化、质检合格后构建文库上机测序。使用 FastQC（http://www.bioinformatics. babraham.ac.uk/projects/fastqc/）对测序原始数据进行过滤，获得高质量测序数据。通过 StringTie[14] 软件对所有的 clean reads 进行转录本拼接与合并。与 *S. latifolia* 参考基因组[15] 比对后，利用 edgeR[16] 软件计算不同氮源试验处理样品中转录本丰度与差异比较。以 $\log_2$FC 的绝对值≥1 且 $P < 0.05$ 为标准筛选差异表达基因。分别采用 Goatools 和 KOBAS[17] 软件对天冬氨酸/硫酸铵（Asp/As）、谷氨酸/硫酸铵（Glu/As）、天冬氨酸/鱼粉蛋白胨（Asp/Pep）、谷氨酸/鱼粉蛋白胨（Glu/Pep）和天冬氨酸/谷氨酸（Asp/Glu）比较组差异表达基因分别进行

GO 和 KEGG 富集分析，$P<0.05$ 时为显著富集。

1.5　数据分析

用 Excel 和 TBtools[18] 进行数据整理和热图的绘制，菌丝生长速度统计分析采用 SPSS 19 进行。

2　结果与分析

2.1　不同氮源对菌丝生长的影响

不同类型氮源对绣球菌菌丝生长的影响见图 1。以天冬氨酸（Asp）和谷氨酸（Glu）为氮源时菌丝平均生长速度较快，分别可达 0.31 $cm \cdot d^{-1}$ 和 0.30 $cm \cdot d^{-1}$，以硫酸铵（As）为氮源时菌丝生长速度为 0.24 $cm \cdot d^{-1}$，以鱼粉蛋白胨（Pep）为氮源时菌丝生长速度为 0.26 $cm \cdot d^{-1}$。以氨基酸 Asp 和 Glu 为氮源时，相对于 As 和 Pep，菌丝生长速度差异极显著（$P<0.01$）。且以 Asp 和 Glu 为氮源培养时，绣球菌菌丝较浓密，呈絮状。

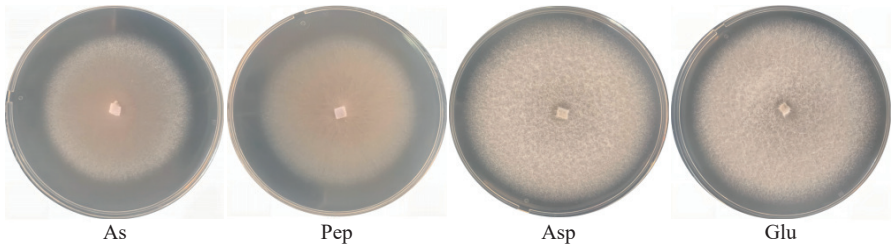


图 1　不同氮源对广叶绣球菌生长的影响

Fig. 1　Effects of different nitrogen sources on growth of *S. latifolia*

2.2　不同氮源差异表达基因的鉴定

以 $|\log_2 FC| \geqslant 1$ 为变化阈值，且 $P<0.05$ 为标准，获得不同氮源比较组间的差异表达基因（differential expression genes, DEGs）。从图 2-A 看出，比较组 Asp/As 获得 DEGs 631 个，Glu/As 获得 DEGs 392 个，Asp/Pep 获得 DEGs 635 个，Glu/Pep 获得 DEGs 331，Asp/Glu 获得 DEGs 144 个。从图 2-B 得知，不同比较组间共有的 DEGs 有 23 个。

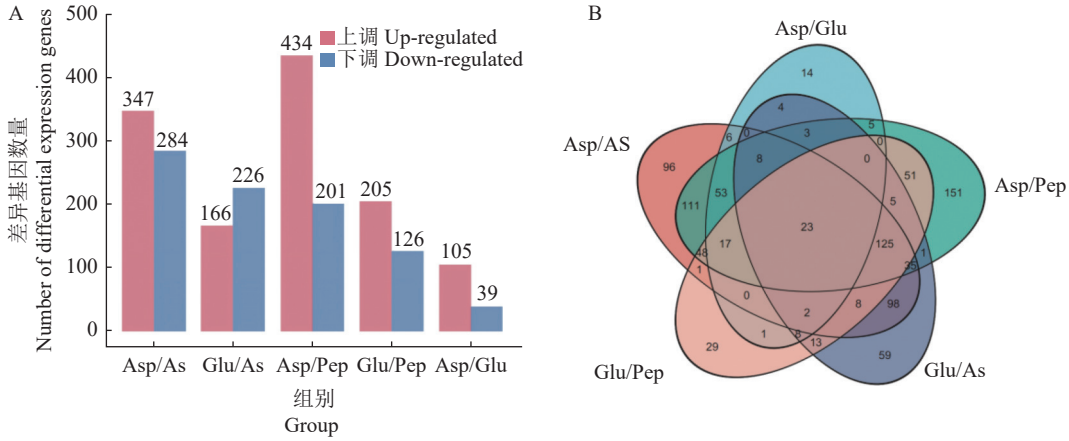


图 2　差异表达基因统计图（A）和韦恩图（B）

Fig. 2　Statistical histogram (A) and Venn diagram (B) of DEGs

2.3　不同氮源比较组差异表达基因的功能分析

通过对不同氮源比较组间 DEGs 的 GO 功能富集（图 3-A）可以看出：Asp 和 Glu 与硫酸铵、蛋白胨相比差异基因主要富集在氧化还原酶活性（oxidoreductase activity）、高亲和力亚铁离子跨膜转运蛋白活性（high-affinity ferrous iron transmembrane transporter activity）、铁离子跨膜转运蛋白活性（iron ion transmembrane transporter activity）和铁离子的还原和转运同化（iron assimilation by reduction and transport）等。差异基因的 KEGG 通路富集分析结果（图 3-B）显示：Asp 和 Glu 与硫酸铵、蛋白胨相比差异基因富集度较高的通路主要有色氨酸代谢（tryptophan metabolism）、花生四烯酸代谢（arachidonic acid metabolism）、氮代谢（nitrogen metabolism）、甘油酯代谢（glycerolipid metabolism）、脂肪酸降解（fatty acid degradation）等。

2.4　不同组间变化倍数显著差异基因分析

根据不同比较组间 DEGs 的变化倍数，分别筛选 Asp/As、Glu/As、Asp/Pep 和 Glu/Pep 比较组内上调前 10 的 DEGs，共获得 22 个 DEGs，基因相对表

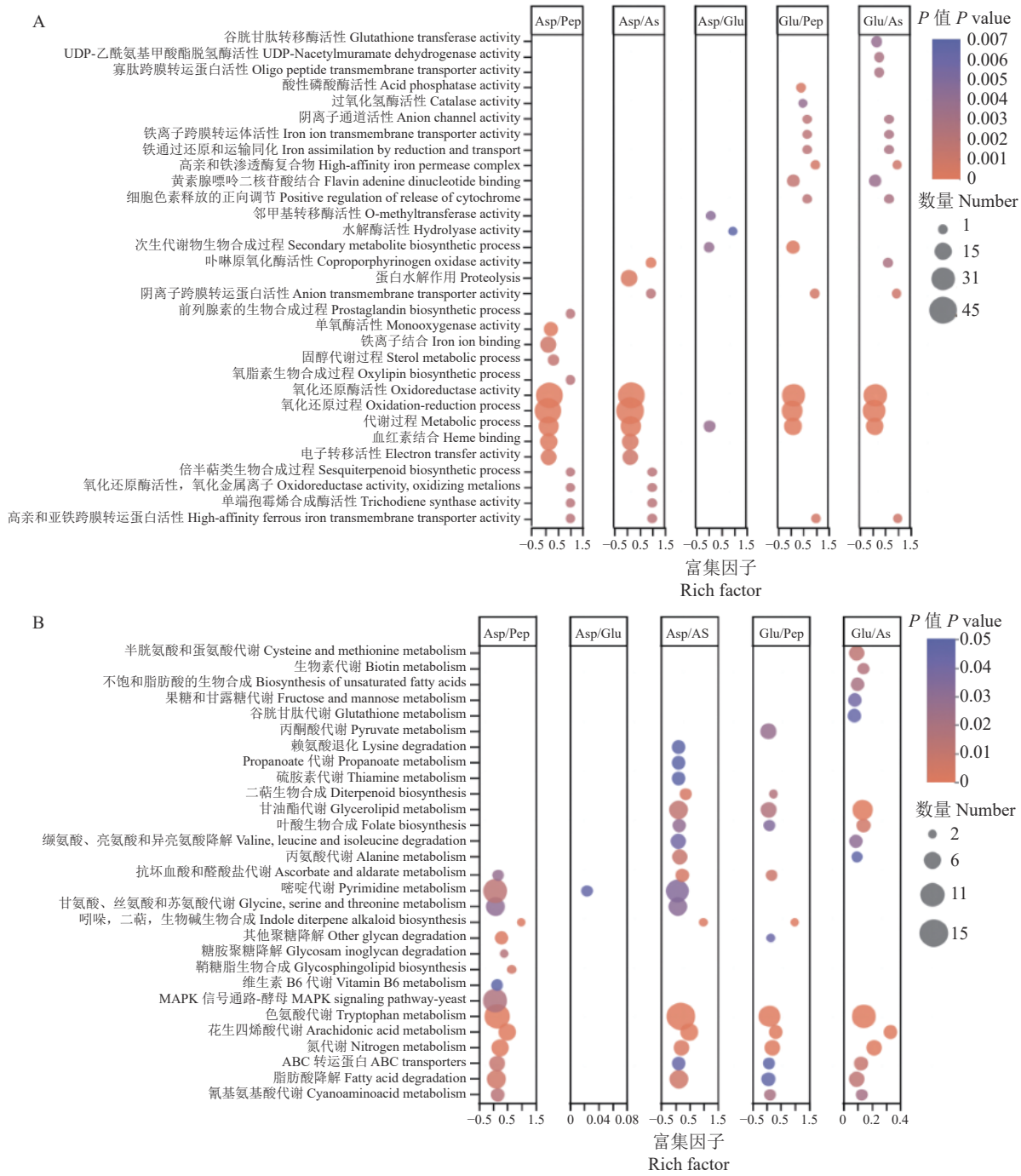


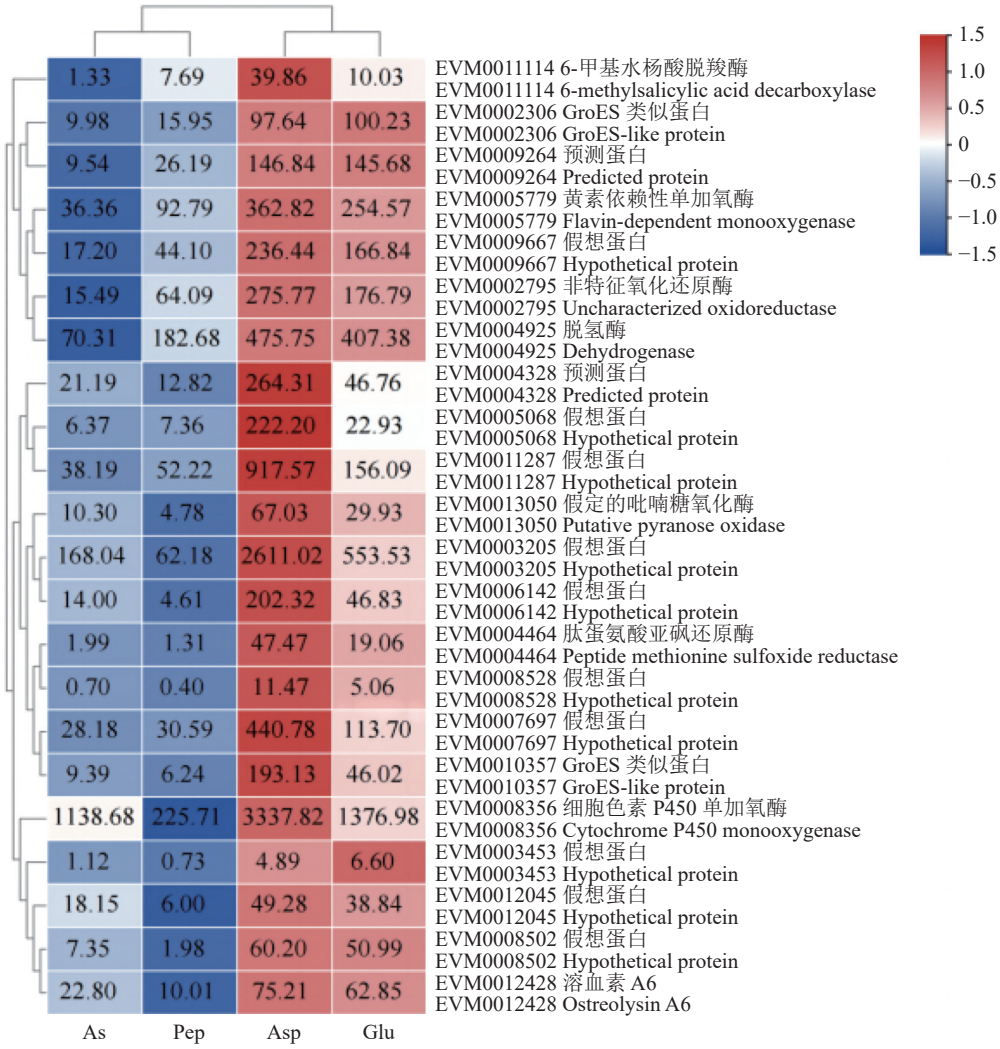
图 3 差异基因 GO（A）和 KEGG（B）富集分析

Fig. 3 GO (A) and KEGG (B) enrichment analyses on DEGs

达量 FPKM（fragments per kilobase of exon model per million mapped fragments）值如图 4 所示。相对于 As 和 Pep，变化显著的基因主要编码细胞色素 P450 单加氧酶（Cytochrome P450 monooxygenase）、溶血素蛋白 ostreolysin A6、吡喃糖氧化酶（pyranose oxidase）、肽蛋氨酸亚砜还原酶（peptide methionine sulfoxide reductase）、GroES 类似蛋白（GroES-like protein）、6-甲基水杨酸脱羧酶（6-methylsalicylic acid decarboxylase）、黄素依赖性单加氧酶（flavin-dependent monooxygenase）、脱氢酶 orsE（dehydrogenase orsE）以及部分未能获得注释的假想蛋白。

2.5 不同比较组基质降解差异显著基因分析

不同比较组间所有的 DEGs 共注释到 95 个氧化还原酶基因，聚类分析可区分为 2 个分支（图 5）。其中一个分支含 60 个基因，在 Asp 或 Glu 组中表达量相对较高，另外一个分支含 35 个基因在 Pep 或 As 组中表达量相对较高。氧化还原酶中单加氧酶数量最多（18 个），其次为短链脱氢酶（15 个）。在 Asp/As、Glu/As、Asp/Pep 和 Glu/Pep 比较组中上调倍



热图上数字为基因表达量 FPKM 值，下同。

Datas are FPKM values. Same for below.

图 4　差异显著基因热图聚类分析

Fig. 4　Heat map clustering on significantly differentiated genes

数较大的有：EVM0004464 肽甲硫氨酸亚砜还原酶（peptide methionine sulfoxide reductase）分别上调 23.81 倍、9.56 倍、36.24 倍和 14.54 倍（$P<0.01$），EVM0011114 6-甲基水杨酸脱羧酶（6-methylsalicylic acid decarboxylase）分别上调 13.75 倍、9.70 倍、5.36 倍和 3.78 倍（$P<0.01$），EVM0013050 吡喃糖氧化酶（putative pyranose oxidase）分别上调 24.02 倍、4.09 倍、17.57 倍和 2.99 倍（$P<0.01$）。

通过 dbCAN[19] 在线注释工具对不比较组间所有差异基因进行注释，其中与纤维素和半纤维素降解相关的糖苷水解酶（glycoside hydrolases，GHs）11 个，碳水化合物酯酶（carbohydrate esterases，CEs）1 个，多糖裂解酶（polysaccharide lyases，PLs）1 个（图 6）。主要包括 2 个 β-己糖胺酶（β-hexosaminidase）、2 个几丁质酶（chitinase）及 2 个 β-甘露糖苷酶（β-mannosidase）等。大多数纤维素和半纤维素降解相关酶基因在 Asp 和 Glu 组中相对于 As 和 Pep 表达量下调，而内切-1,4-β-木聚糖酶（endo-1,4-β-xylanase）基因在 Asp/As 和 Asp/Pep 比较组中表达量显著上调（$P<0.01$），内切-1,3-β-葡聚糖酶（endo-1,3-β-glucanase）在 Asp 和 Glu 中相对于 As 和 Pep 表达量均显著上调（$P<0.01$），2 个 β-甘露糖苷酶基因在 Asp/Pep 比较组中均显著上调（$P<0.01$）。

差异基因中与铁离子转运和还原相关的基因共鉴定出 8 个（图 7），包括 2 个质膜铁离子渗透酶（plasma membrane iron permease）、2 个铁离子还原酶（iron reductase）、2 个铁转运多铜氧化酶（iron transport multicopper oxidase fio1）、1 个锌/铁离子渗透酶（zinc/iron permease）和 1 个铁离子摄取簇蛋白（hypothetical iron uptake cluster protein）。其中，EVM0004041（incomplete iron reductase）在 As 中表

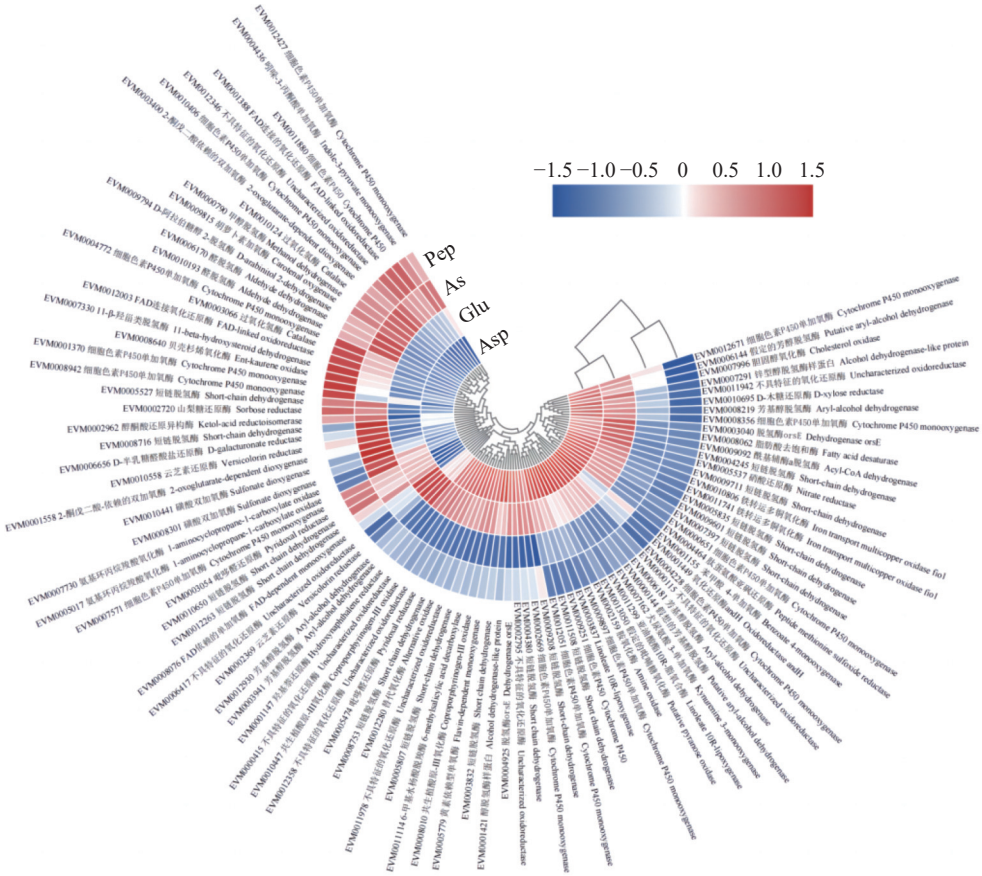


图 5 氧化还原酶基因热图聚类分析

Fig. 5 Heat map clustering on oxidoreductase genes

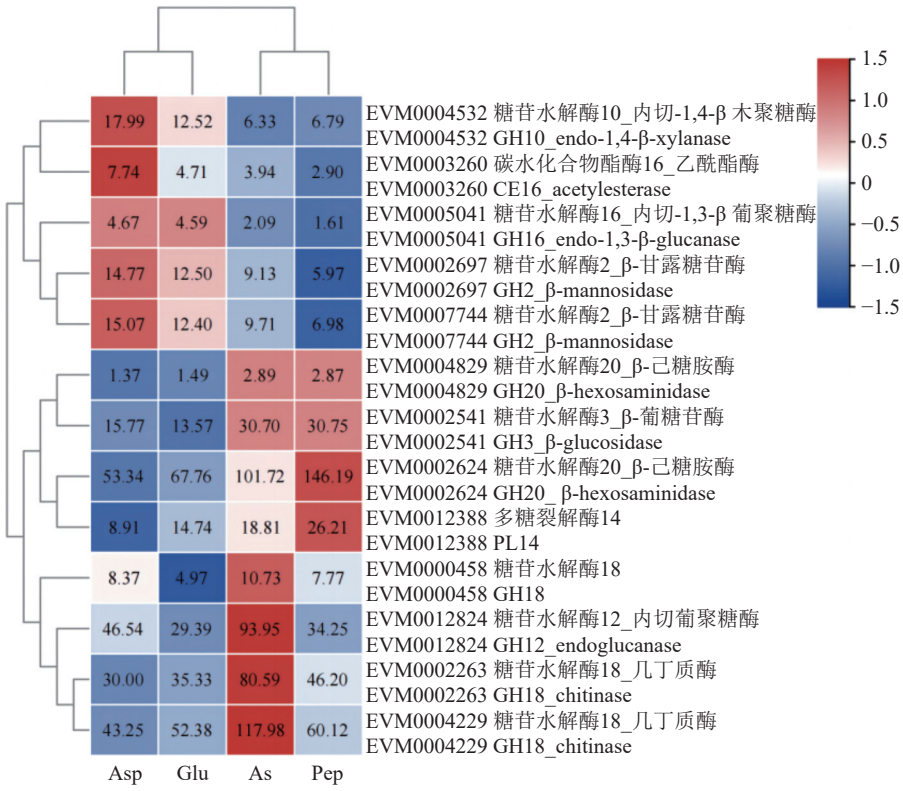


图 6 纤维素和半纤维素降解相关基因热图聚类分析

Fig. 6 Heat map clustering on cellulose- and hemicellulose-degrading genes

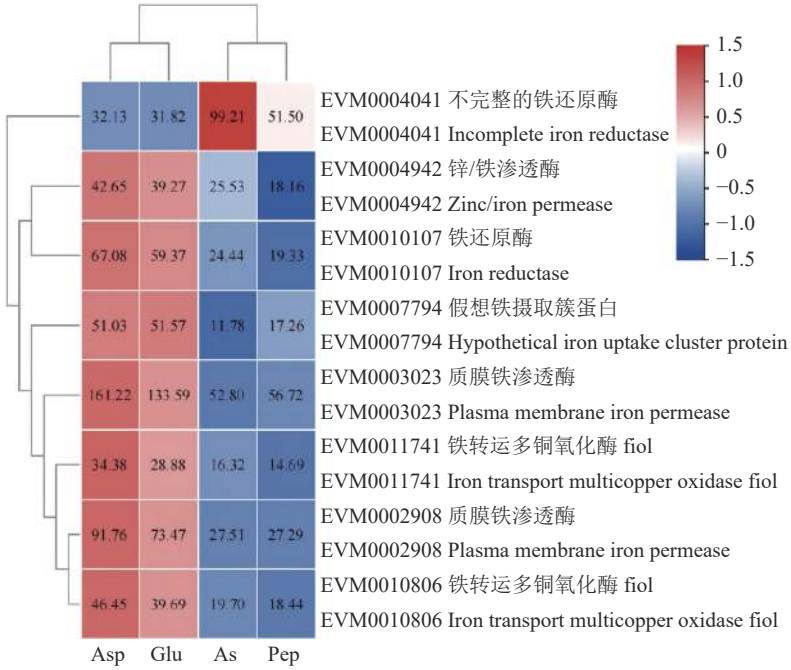


图 7　铁离子转运和还原相关基因热图聚类分析

Fig. 7　Heat map clustering on iron transport and reduction genes

达量相对较高，其余铁离子代谢相关基因在 Asp 和 Glu 组中表达量相对较高。

3　讨论

外源额外添加营养物质，可以为生物体生长发育提供适宜及必需的营养因子，促进其生长发育或次级代谢产物合成。如特异性添加糖类[20−21]、氨基酸[12, 22]、矿质元素[23]、芳香族化合物[24]、有机酸[25−26]等，可促进食用菌菌丝生长或胞外酶活性。因此针对一些生长周期较长、基质转化率较低的食用真菌，可通过添加适宜的生长促进物质，提高木质纤维素降解酶活性，促进栽培基质的高效利用。

本研究通过比较 Asp、Glu 与无机氮源硫酸铵、有机复合氮源鱼粉蛋白胨对绣球菌菌丝生长的影响，结果表明 Asp、Glu 不仅可促进菌丝生长，且菌丝更浓密。在生长培养基中添加谷氨酸和天冬酰胺可提高里氏木霉菌（*Trichoderma reesei*）的纤维素酶和 β-木聚糖酶活性[27]，谷氨酸对拟层孔菌（*Fomitopsis* sp.）羧甲基纤维素酶活性促进作用较天冬酰胺和天冬氨酸效果更好[28]。天冬酰胺也可以促进地曲霉（*Aspergillus terreus*）的纤维素酶合成[29]并提高金针菇（*Flammulina velutipes*）β-葡萄糖苷酶的产量[30]。因此，Asp 和 Glu 促进绣球菌生长可能由于相关胞外酶活性的提升，促进了菌丝生长。

为进一步分析 Asp 和 Glu 对绣球菌生长促进作用的机制，试验通过转录组测序分析 4 种不同氮源诱导下菌丝体基因表达差异。DEGs 中与纤维素和半纤维素利用相关的基因较少，内切-1,4-β-木聚糖酶、内切-1,3-β-葡聚糖酶和 β-甘露糖苷酶在 Asp 或 Glu 处理组中表达量上调，但上调倍数较小（2～3 倍）。而氧化还原酶中上调基因数量较多，其中肽甲硫氨酸亚砜还原酶、6-甲基水杨酸脱羧酶和吡喃糖氧化酶等在 Asp 或 Glu 处理组中上调倍数相对较大（3～36 倍），同时与铁离子转运（plasma membrane iron permease、iron transport multicopper oxidase fio1 和 hypothetical iron uptake cluster protein）、还原（iron reductase）相关的差异表达基因在 Asp 或 Glu 处理组中大都表达量上调。氧化还原反应及铁离子代谢与木腐真菌基质降解过程中的芬顿反应相关，氧化还原反应参与了 H_2O_2 的产生，铁离子与 H_2O_2 反应产生羟基自由基，羟基自由基在木质素修饰及纤维素解聚方面起关键作用[31−32]。GO 功能富集结果也表明氧化还原酶活性和铁离子跨膜转运活性富集度较高。因此推测 Asp 和 Glu 对绣球菌芬顿反应具有一定的促进作用。

不同比较组中差异变化上调倍数排名靠前的基因中除了功能未知的假想蛋白和氧化还原酶基因，溶血素蛋白 ostreolysin A6 和 GroES 类蛋白基因受 Asp 和 Glu 诱导上调显著。溶血素基因在糙皮侧耳（*Pleurotus ostreatus*）原基形成和子实体阶段特异性表达，可抑制菌丝生长和诱导原基形成[33−34]，溶血素 A6 基因是子实体形成的触发基因[35]。蛋白质组和 qPCR 结果也显示绣球菌溶血素基因在幼菇阶段表达

量最高，与菌丝阶段相比分别上调 23 倍和 280 倍，也可能参与了子实体的形成过程[36]。GroES 作为蛋白质折叠过程中的辅分子伴侣，协助 GroEL 完成蛋白质的折叠[37]。由于绣球菌基因组功能注释还不完善，基因功能的研究更是鲜见报道，因此 *ostreolysin A6*、*GroES* 以及功能未知的假想蛋白基因在其生长发育过程中的作用还需更加深入的研究。

4 结论

本研究结果初步表明 Asp 和 Glu 可促进广叶绣球菌菌丝的生长。Asp 和 Glu 可能通过促进绣球菌氧化还原酶活性及铁离子代谢过程，提高其基质利用能力。多种氨基酸的复合使用是否能够发挥更好的促进作用还需进一步研究。同时，结合蛋白质组技术分析氨基酸对绣球菌降解木质纤维素的影响，可为木质纤维素降解机制、栽培生理及代谢研究更好的奠定基础。

参考文献：

[1] KIMURA T. Natural products and biological activity of the pharmacologically active cauliflower mushroom *Sparassis crispa* [J]. *BioMed Research International*, 2013, 2013: 982317.

[2] SHARMA N, TAPWAL A, VERMA R, et al. Medicinal, nutritional, and nutraceutical potential of *Sparassis crispa* s. lat. : A review [J]. *IMA Fungus*, 2022, 13（1）: 8.

[3] WEI X, CHENG F E, LIU J Y, et al. *Sparassis latifolia* polysaccharides inhibit colon cancer in mice by modulating gut microbiota and metabolism [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 232: 123299.

[4] 肖冬来, 马璐, 杨驰, 等. 不同碳源条件下广叶绣球菌转录组分析 [J]. 微生物学通报, 2019, 46（7）：1654−1661.
XIAO D L, MA L, YANG C, et al. Transcriptome analysis of *Sparassis latifolia* cultivated with different carbon sources [J]. *Microbiology China*, 2019, 46（7）: 1654−1661.（in Chinese）

[5] 马璐, 杨驰, 肖冬来, 等. 基质碳氮比对广叶绣球菌生长发育的影响 [J]. 菌物学报, 2021, 40（12）：3196−3213.
MA L, YANG C, XIAO D L, et al. Effects of different substrate carbon to nitrogen ratio(C/N) on the growth and development of *Sparassis latifolia* [J]. *Mycosystema*, 2021, 40（12）: 3196−3213.（in Chinese）

[6] 安琪, 吴雪君, 吴冰, 等. 不同碳源和氮源对金针菇降解木质纤维素酶活性的影响 [J]. 菌物学报, 2015, 34（4）：761−771.
AN Q, WU X J, WU B, et al. Effects of carbon and nitrogen sources on lignocellulose decomposition enzyme activities in *Flammulina velutipes* [J]. *Mycosystema*, 2015, 34（4）: 761−771.（in Chinese）

[7] 刘秀明, 陈强, 邬向丽, 等. 国内外食用菌增产添加物研究进展 [J]. 食用菌学报, 2018, 25（1）：120−125.
LIU X M, CHEN Q, WU X L, et al. Usage of mineral and amino acid additives in edible mushroom cultivation [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2018, 25（1）: 120−125.（in Chinese）

[8] NAIM L, ALSANAD M A, SHABAN N, et al. Production and composition of *Pleurotus ostreatus* cultivated on Lithovit(®)-Amino25 supplemented spent substrate [J]. *AMB Express*, 2020, 10（1）: 188.

[9] CARRASCO J, ZIED D C, PARDO J E, et al. Supplementation in mushroom crops and its impact on yield and quality [J]. *AMB Express*, 2018, 8（1）: 146.

[10] DHAWAN S, KUHAD R C. Effect of amino acids and vitamins on laccase production by the bird' s nest fungus *Cyathus bulleri* [J]. *Bioresource Technology*, 2002, 84（1）: 35−38.

[11] BEG Q K, BHUSHAN B, KAPOOR M, et al. Production and characterization of thermostable xylanase and pectinase from *Streptomyces* sp. QG-11-3 [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2000, 24（6）: 396−402.

[12] MIAO J X, WANG M M, MA L, et al. Effects of amino acids on the lignocellulose degradation by *Aspergillus fumigatus* Z5: Insights into performance, transcriptional, and proteomic profiles [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, 12: 4.

[13] 林衍铨, 马璐, 应正河, 等. 碳源和氮源对绣球菌菌丝生长的影响 [J]. 食用菌学报, 2011, 18（3）：22−26.
LIN Y Q, MA L, YING Z H, et al. Effect of carbon and nitrogen source on the growth of *Sparassis crispa Mycelium* [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2011, 18（3）: 22−26.（in Chinese）

[14] PERTEA M, PERTEA G M, ANTONESCU C M, et al. StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads [J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33（3）: 290−295.

[15] YANG C, MA L, XIAO D L, et al. Chromosome-scale assembly of the *Sparassis latifolia* genome obtained using long-read and Hi-C sequencing [J]. *G3*, 2021, 11（8）: jkab173.

[16] ROBINSON M D, MCCARTHY D J, SMYTH G K. edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26（1）: 139−140.

[17] XIE C, MAO X Z, HUANG J J, et al. KOBAS 2.0: A web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39（S2）: W316−W322.

[18] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Molecular Plant*, 2020, 13（8）: 1194−1202.

[19] ZHANG H, YOHE T, HUANG L, et al. dbCAN2: A meta server for automated carbohydrate-active enzyme annotation [J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46（W1）: W95−W101.

[20] 杨焕玲, 查磊, 赵旭, 等. 培养基中添加海藻糖对大球盖菇、斑玉蕈菌丝生长的影响 [J]. 微生物学通报, 2019, 46（5）：1108−1114.
YANG H L, ZHA L, ZHAO X, et al. Effect of adding trehalose to culture medium on the growth of *Stropharia rugosoannulata* and Hypsizigus marmoreus [J]. *Microbiology China*, 2019, 46（5）: 1108−1114.（in Chinese）

[21] 韩美玲, 边禄森, 姜宏浩, 等. 不同碳氮源对糙皮侧耳木质纤维素酶活性的影响 [J]. 菌物学报, 2020, 39（8）：1538−1550.

HAN M L, BIAN L S, JIANG H H, et al. Effects of different carbon and nitrogen sources on lignocellulolytic enzyme activities of *Pleurotus ostreatus* [J]. *Mycosystema*, 2020, 39 (8): 1538−1550. (in Chinese)

[22] SHENG Y Q, ZHANG Y, MA H Z, et al. Enhancing prehydrolysates fermentability by adding nucleophilic amino acids and proteins in biomass pretreatment [J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2020, 8 (21): 7892−7900.

[23] VRSANSKA M, VOBERKOVA S, LANGER V, et al. Induction of laccase, lignin peroxidase and manganese peroxidase activities in white-rot fungi using copper complexes [J]. *Molecules*, 2016, 21 (11): 1553.

[24] 张津京, 陈明杰, 冯志勇, 等. 芳香族化合物对斑玉蕈菌丝生物量、漆酶活性及其转录水平的影响 [J]. 菌物学报, 2016, 35 (9): 1130−1138.
ZHANG J J, CHEN M J, FENG Z Y, et al. Effects of aromatic compounds on biomass, laccase activities and transcript levels of *Hypsizygus marmoreus* [J]. *Mycosystema*, 2016, 35 (9): 1130−1138. (in Chinese)

[25] 张津京, 汪虹, 陈明杰, 等. 曲酸对斑玉蕈子实体形成过程中木质纤维素酶的影响研究 [J]. 菌物学报, 2018, 37 (12): 1680−1687.
ZHANG J J, WANG H, CHEN M J, et al. Effects of kojic acid on lignocellulase at fruiting body formation process of *Hypsizygus marmoreus* [J]. *Mycosystema*, 2018, 37 (12): 1680−1687. (in Chinese)

[26] 王言, 余昌霞, 曹晖, 等. 三种有机酸对刺芹侧耳和金针菇菌丝生长的影响 [J]. 食用菌学报, 2015, 22 (3): 38−42.
WANG Y, YU C X, CAO H, et al. Effect of oxalic, citric and tartaric acids on *Pleurotus eryngii* and *Flammulina velutipes* mycelial biomass production and DNA content [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2015, 22 (3): 38−42. (in Chinese)

[27] CRISTICA M, CIORNEA E, MANOLIU A. Influence of some aminoacids on the activity of cellulolytic and xylanolytic enzymes in the fungus *Trichoderma reesei* qm-9414 [J]. *Agronomy Series of Scientific Research/Lucrari Stiintifice Seria Agronomie*, 2012, 55 (2): 317−320.

[28] DESWAL D, KHASA Y P, KUHAD R C. Optimization of cellulase production by a brown rot fungus *Fomitopsis* sp. RCK2010 under solid state fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102 (10): 6065−6072.

[29] VYAS A, VYAS D, VYAS K. Production and optimization of cellulases on pretreated groundnut shell by *Aspergillus terreus* AV49 [J]. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 2005, 64 (4): 281−286.

[30] MALLERMAN J, PAPINUTTI L, LEVIN L. Characterization of β-glucosidase produced by the white rot fungus *Flammulina velutipes* [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2015, 25 (1): 57−65.

[31] ARANTES V, MILAGRES A M F, FILLEY T R, et al. Lignocellulosic polysaccharides and lignin degradation by wood decay fungi: The relevance of nonenzymatic Fenton-based reactions [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2011, 38 (4): 541−555.

[32] SHAH F, MALI T, LUNDELL T K. Polyporales brown rot species *Fomitopsis pinicola*: Enzyme activity profiles, oxalic acid production, and Fe(3+)-reducing metabolite secretion [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84 (8): e02662−17.

[33] BERNE S, POHLEVEN J, VIDIC I, et al. Ostreolysin enhances fruiting initiation in the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) [J]. *Mycological Research*, 2007, 111 (12): 1431−1436.

[34] VIDIC I, BERNE S, DROBNE D, et al. Temporal and spatial expression of ostreolysin during development of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) [J]. *Mycological Research*, 2005, 109 (3): 377−382.

[35] BARH A, SHARMA K, BHATT P, et al. Identification of key regulatory pathways of basidiocarp formation in *Pleurotus* spp. using modeling, simulation and system biology studies [J]. *Journal of Fungi*, 2022, 8 (10): 1073.

[36] 肖冬来, 马璐, 应正河, 等. 广叶绣球菌溶血素基因的序列分析及表达动态 [J]. 食用菌学报, 2016, 23 (4): 7−13.
XIAO D L, MA L, YING Z H, et al. Sequence characterization and differential expression of a hemolysin gene and the encoded protein from *Sparassis latifolia* [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2016, 23 (4): 7−13. (in Chinese)

[37] HAYER-HARTL M, BRACHER A, HARTL F U. The GroEL-GroES chaperonin machine: A nano-cage for protein folding [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2016, 41 (1): 62−76.

（责任编辑：林海清）