

不同栽培料培养下毛木耳转录组分析

刘 格, 楚晓真, 王保瑞, 刘 璇, 龚 攀

(郑州市农业科学研究院 郑州 450000)

摘 要:为探究不同栽培料对毛木耳(*Auricularia cornea*)生长发育及代谢机制的影响,本研究以棉籽壳为主料的对照组(CK:棉籽壳 84%、麸皮 13%、石膏 3%)和玉米芯、木屑和棉籽壳复合料的处理组(T1:玉米芯 28%、木屑 28%、棉籽壳 28%、麸皮 13%、石膏 3%)培养的毛木耳子实体为材料,采用 Illumina HiSeq 测序平台进行转录组测序分析。结果显示,两组样品共获得 clean reads 291.87 M,碱基质控 Q20 均高于 95%。差异表达基因(DEGs)分析表明,与对照组相比,共筛选到 DEGs 4847 个,其中上调基因 141 个,下调基因 4706 个。GO 功能富集分析显示,DEGs 主要富集于翻译和肽代谢过程等;KEGG 通路富集分析表明,差异基因显著富集于核糖体、氧化磷酸化、吞噬体和蛋白质加工等与代谢和蛋白质合成相关的通路。实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)验证结果与转录组数据趋势一致,证实测序结果可靠。本研究为解析毛木耳对复合栽培料的适应性代谢机制提供了分子依据,也为优化毛木耳栽培料配方提供了理论支撑。

关键词:毛木耳;栽培料;转录组测序;差异表达基因;代谢通路

中图分类号:S646.6

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2026)08-025-06

Transcriptome analysis of *Auricularia cornea* cultivated under different cultivation substrates

Liu Ge, Chu Xiaozhen, Wang Baorui, Liu Xuan, Gong Pan

(Zhengzhou Agricultural Science and Technology Research Institute, Zhengzhou 450000, Henan, China)

Abstract: To explore the effects of different cultivation substrates on the growth, development and metabolic mechanism of *Auricularia cornea*, this study used a control group (CK) with cottonseed hulls as the main substrate (84% cottonseed hulls, 13% bran, and 3% gypsum) and a treatment group (T1) with a composite substrate of corncob, sawdust, and cottonseed hulls (28% corncob, 28% sawdust, 28% cottonseed hulls, 13% bran, and 3% gypsum). Fruit bodies of *A. cornea* were cultivated separately under these two conditions, and transcriptome sequencing of the fruiting bodies was performed using the Illumina HiSeq sequencing platform. The results showed that a total of 291.87 M clean reads were obtained from the two groups, with Q20 base quality scores above 95% in all samples. Differentially expressed genes (DEGs) analysis revealed that compared with the control group, a total of 4847 DEGs were identified in the treatment group, including 141 up-regulated genes and 4706 down-regulated genes. GO functional enrichment analysis revealed that the DEGs were mainly enriched in biological processes such as translation and peptide metabolism processes. KEGG pathway enrichment analysis indicated that the DEGs were significantly enriched in pathways related to metabolism and protein synthesis, including ribosome, oxidative phosphorylation, phagosome, and protein processing. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) validation results were consistent with the transcriptomic data, confirming the reliability of the sequencing results. This study provides a molecular basis for understanding the adaptive metabolic mechanism of *A. cornea* to composite cultivation substrates, and also offers theoretical support for optimizing the substrate formula for *A. cornea* cultivation.

Key words: *Auricularia cornea*; Cultivation substrate; Transcriptome sequencing; Differentially expressed gene; Metabolic pathway

收稿日期:2026-01-30;修回日期:2026-05-29

基金项目:国家大宗蔬菜产业技术体系(CARS-23);河南优势特色农业产业科技支撑行动计划食用菌专项(20250803003)

作者简介:刘 格,女,研究实习员,主要从事食用菌栽培技术研究工作。E-mail:649394187@qq.com

通信作者:楚晓真,女,副研究员,主要从事食用菌栽培技术研究工作。E-mail:chuxiaozhen221@126.com

毛木耳是我国传统药食同源真菌,其子实体富含多糖、膳食纤维、氨基酸等多种活性成分,这些成分在增强免疫力、降血脂等方面具有显著药理作用,毛木耳兼具经济价值与药用价值,在食用菌产业中占据重要地位^[1]。栽培料作为毛木耳生长发育的营养载体,其化学组成和营养结构直接影响菌丝生长速度、子实体产量及品质^[2],是影响毛木耳栽培效益的关键因素。当前,毛木耳栽培主要依赖木屑、棉籽壳、玉米芯等农业废弃物,然而,不同栽培料的碳氮比、纤维素含量、木质素比例存在显著差异,直接导致毛木耳在菌丝生长速率、子实体发育进程和生物转化率等重要指标上表现不一^[3-5]。

转录组测序技术作为高通量基因表达分析的核心手段,能够迅速筛选出不同生长环境下的差异表达基因,进而解析生物体内基因调控网络与代谢通路,已成为食用菌生长发育机制研究的重要工具^[6-7]。在香菇、平菇等食用菌研究中,该技术已取得诸多进展。周慧等^[8]发现,香菇栽培料中添加竹屑后,与子实体形态相关基因的表达量显著低于纯木屑组,为栽培料优化提供了分子依据。赵新平等^[9]利用转录组测序技术筛选出与香菇耐热性密切相关的基因,从而为香菇耐热品种的选育奠定了分子基础。在针对毛木耳的研究中,陈天赐等^[10]观察到,毛木耳原基与小耳期之间的差异表达基因主要富集于DNA修复、同源重组及细胞组成相关的生物过程,而小耳期与成熟期之间的差异表达基因则主要集中在酪氨酸代谢和能量代谢途径;罗阳兰等^[11]利用代谢组学技术进一步揭示,以桉木屑和桉树皮栽培的毛木耳子实体,其蛋白质含量、灰分含量及关键代谢物、代谢通路均与杂木屑栽培组存在显著差异。综上,现有研究已初步揭示毛木耳生长发育阶段的转录组特征及不同栽培基质对其代谢产物的影响,但关于不同类型栽培料对毛木耳转录组整体表达模式的影响、营养物质吸收与利用的分子调控机制,目前尚未见报道。

本研究以棉籽壳为主料的对照组和玉米芯、木屑、棉籽壳复合料的处理组培养的毛木耳子实体为研究对象,通过转录组测序筛选差异表达基因,结合GO和KEGG功能富集分析,以期解析毛木耳适应不同栽培料的分子调控机制。研究结果旨在阐明栽培料营养特征与毛木耳基因表达调控的关联,为毛木耳优质高产栽培料的精准化栽培技术的创新研发提供理论支撑,同时也为食用菌资源高效利用与产业可持续发展提供分子层面的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试毛木耳菌株为豫农毛13,由河南省农业科学院食用菌研究所提供。试验在郑州市农业科技创新研究院荥阳示范基地开展,试验时间为2024年12月至2025年6月。两种栽培料配方如下,对照组(CK):棉籽壳含量(ϕ ,下同)84%、麸皮含量13%、石膏含量3%;处理组(T1):玉米芯含量28%、木屑含量28%、棉籽壳含量28%、麸皮含量13%、石膏含量3%。所有栽培料含水量调节至65%,采用18 cm×35 cm×0.005 cm的聚丙烯塑料袋装袋,灭菌后在无菌条件下接种,在22~25℃、空气相对湿度60%~70%条件下发菌;菌丝满袋后,划“V”形口,每袋15~20个,间距均匀,出耳期温度18~22℃,相对湿度85%~95%,每日喷水3~4次,通风3~4次,每次20~30 min,100~500 lx散射光,待子实体成熟后(菌盖舒展、边缘内卷)采集,每组3个重复,每个重复50袋,样品经液氮速冻后于-80℃保存备用。

1.2 转录组测序

采用Trizol法提取毛木耳子实体总RNA,通过Nanodrop 2000检测RNA纯度(A_{260}/A_{280} 为1.8~2.0),Agilent 2100 Bioanalyzer检测RNA完整性($RIN \geq 8.0$)。按照Illumina HiSeq测序平台标准流程构建cDNA文库,文库质检合格后进行测序,测序工作由郑州终止子生物信息科技有限公司完成。

1.3 生物信息学分析

对测序得到的raw data进行过滤得到clean reads,之后使用Trinity进行De novo组装,得到组装的转录本集和其对应的基因,将转录本集在六大数据库进行基因功能注释,包括:NR、NT、GO、KEGG、COG和Swissprot。将clean reads比对回组装序列,进行定量分析,根据基因在不同样品中的表达量进行差异表达分析,对筛选出的差异表达基因进行GO功能分析和KEGG功能分析,对DEGs进行功能富集分析、聚类分析等。

1.4 qRT-PCR验证

从差异表达基因中选取6个基因进行验证,以actin基因为内参基因。用NCBI Primer-BLAST设计引物(表1)。采用PrimeScript RT Reagent Kit反转录合成cDNA,以cDNA为模板,每个样品3个重复,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达量。

1.5 数据处理

采用Excel 2018处理数据,采用Graphpad

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Primers used for real-time fluorescence quantitative PCR

引物名称 Primer name	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
act F/R	TGGAATGGAAGCTGCTGGTA	TTGATCTTCATGCTGCTCGG
DN42021 F/R	GACTGTGTTATGCGGTTGGC	TTGAATACTACGCCGGGACG
DN38326 F/R	AAGCCGATGACTTGGCTACC	CAACACCGACGAAGAGACGA
DN3517 F/R	CAAGGGAACAGCACCGTAGA	ACCTCTATGGACTCGCCGAA
DN321058 F/R	CATCAGCCTCTTCCCTTGGT	ATTTGGCGTCGTAGAGGGTC
DN322163 F/R	TGTTCACCGCATGAGTGGAT	TCCCTTGCTCTCCAACGAGC
DN31066 F/R	CCAGCAGTGGATGGTGTCT	TGGATGATTGCTCAAGCCGT

Prism 8.0 作图。

2 结果与分析

2.1 转录组测序数据质量评估

数据质量评估结果显示,两组样品共获得 291.87 M 的 clean reads,每组样品的测序数据量均能满足后续基因表达分析的需求。其中,所有样品 Q20 值均高于 95%,表明测序数据的碱基准确性较高,测序质量可靠,可用于后续差异表达基因筛选及功能富集分析,为毛木耳适应复合栽培基质的代谢机制研究提供了高质量的分子数据支撑(表 2)。

2.2 差异表达基因筛选

以 CK 组为对照,对复合栽培料组子实体的基因表达量进行差异分析,由图 1 可知,共筛选到 4847 个 DEGs,其中上调表达基因 141 个,下调表达基因 4706 个,下调表达基因数量明显多于上调表达基因,表明复合栽培基质对毛木耳的基因表达产生了明显影响,多数基因的表达受到抑制,推测这

表 2 转录组测序数据

Table 2 Transcriptome sequencing data

样品 Sample	清洁数据 Clean reads/M	Q20/%	Q30/%	GC 含量 GC content/%
CK-1	44.91	96.97	91.78	61.10
CK-2	43.46	95.23	87.37	59.78
CK-3	49.97	96.26	89.89	60.20
T1-1	67.71	97.12	92.08	55.94
T1-2	41.42	96.78	91.32	60.44
T1-3	44.40	96.85	91.44	60.27

些差异表达基因可能参与毛木耳对复合基质的适应调控过程。此外,在筛选得到的差异表达基因中,包含 *snf1* 和 *skn7* 两个关键基因,其中 *snf1* 基因下调至对照组的 1/8,*skn7* 表达下调至对照组的 1/7。

2.3 差异表达基因 GO 功能富集分析

为明确差异表达基因的生物学功能,对筛选得到的 4847 个 DEGs 进行 GO 功能富集分析,将其归类到生物过程(biological process)、细胞组分(cellular component)和分子功能(molecular function)三大

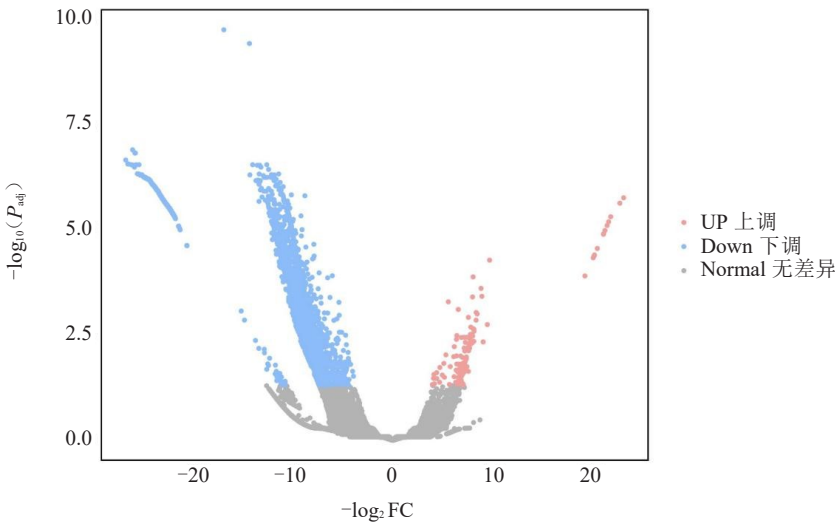


图 1 差异表达基因火山图

Fig. 1 Volcano map of different expressed genes (DEGs)

类中。富集结果显示,DEGs 主要富集在生物过程类别,其中显著富集的条目包括翻译、肽代谢过程等,表明复合栽培基质栽培的毛木耳,其子实体在蛋白质合成、肽类代谢等基础生命活动过程中的基因表达发生明显改变,推测这些过程可能是毛木耳适应复合栽培基质的重要生物过程。细胞组分和分子功能类别中,DEGs 也有一定富集,但富集程度相对较低,在细胞组分中,非膜结合细胞器富集程度较高;在分子功能中,核糖体结构组分和结构分

子活性为核心富集条目(图 2)。

2.4 差异表达基因KEGG通路富集分析

为进一步探究差异表达基因参与的代谢调控网络,对差异表达基因进行 KEGG 通路富集分析,明确差异表达基因在代谢通路中的分布特征。通路富集结果显示(图 3),差异表达基因共涉及 123 条代谢通路,主要包括核糖体、吞噬体、氧化磷酸化、内质网中蛋白质加工以及半胱氨酸和蛋氨酸代谢等通路,其中核糖体通路是蛋白质加工的核心通

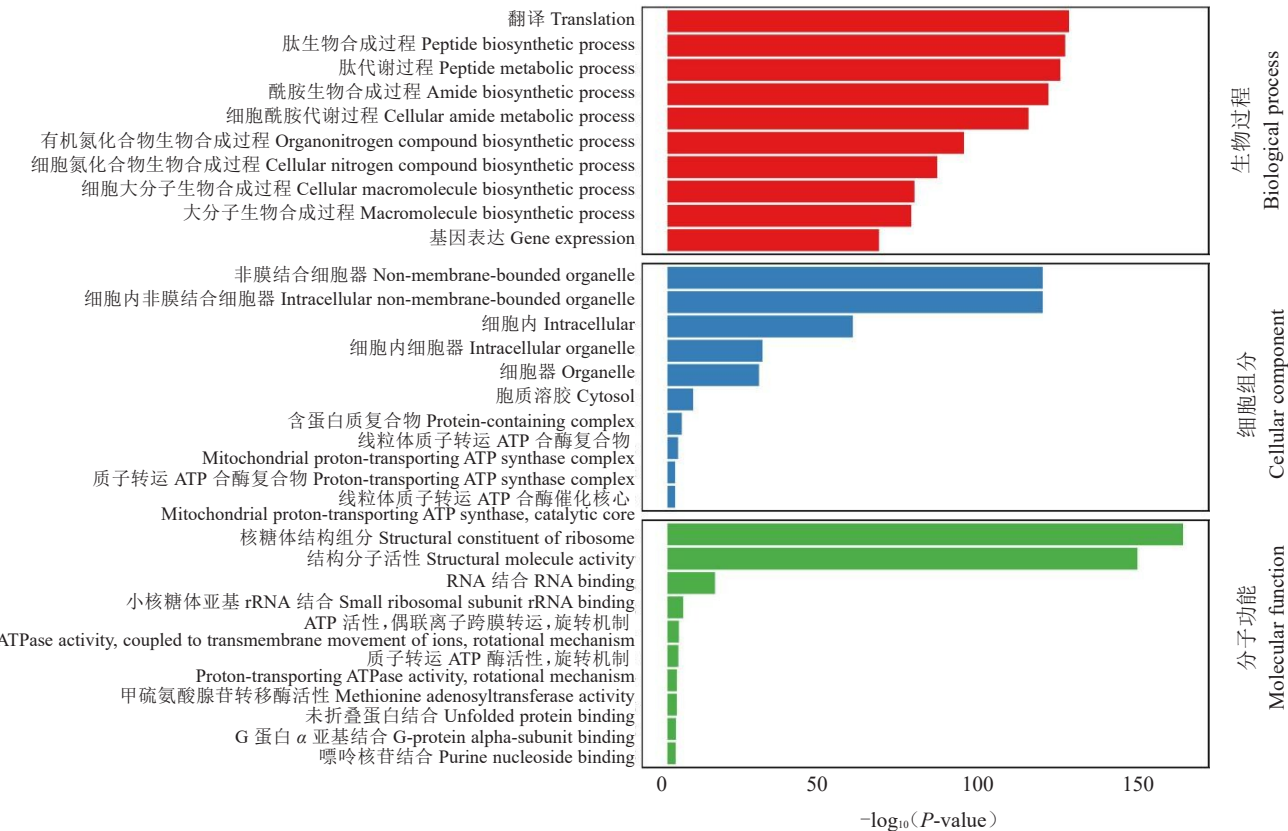


图 2 差异表达基因 GO 功能富集分析
Fig. 2 GO function enrichment analysis of DEGs

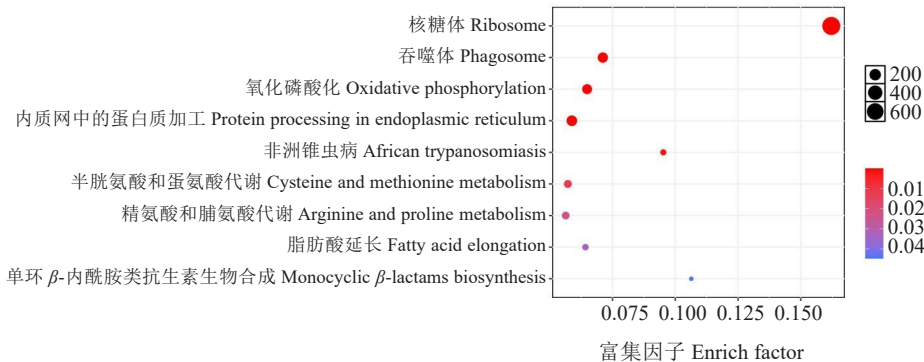


图 3 差异表达基因 KEGG 富集分析
Fig. 3 KEGG enrichment analysis of DEGs

路,其显著富集提示复合栽培基质可能通过调控毛木耳蛋白质合成过程影响生长发育及代谢适应;氧化磷酸化与细胞能量代谢密切相关,该通路的富集表明复合基质可能改变了毛木耳的能量代谢模式;吞噬体和蛋白质加工通路的富集则可能参与毛木耳营养物质的吸收利用与蛋白质修饰。

2.5 qRT-PCR验证结果

为验证转录组测序结果的可靠性,选取6个差异表达基因进行qRT-PCR验证,结果显示(图4),所选基因的相对表达量变化趋势与转录组测序得到的log₂FC值一致,表明本研究的转录组测序数据准确可靠,后续基于测序数据的差异表达基因分析及功能解读结果可信。

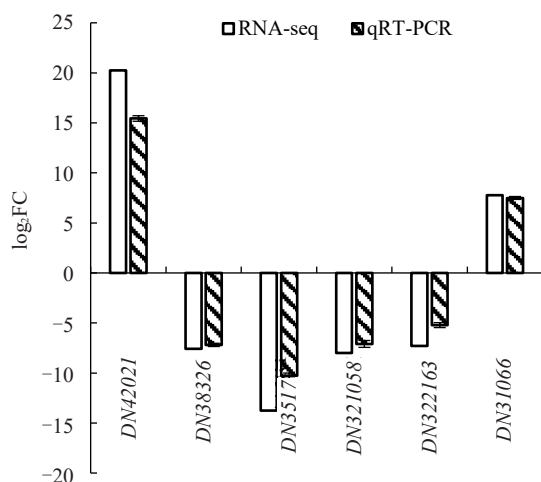


图4 差异表达基因qRT-PCR
Fig. 4 qRT-PCR results of DEGs

3 讨论与结论

栽培料的营养成分是影响食用菌生长发育的关键因素,毛木耳作为腐生真菌,其生长依赖于栽培料中碳水化合物、氮源等营养物质的分解利用。笔者通过转录组测序技术,系统分析了毛木耳在棉籽壳与玉米芯、木屑和棉籽壳复合料中的基因表达差异,揭示了其适应多元营养环境的分子机制。

差异表达基因分析表明,相对于棉籽壳对照组,复合栽培料处理组筛选到4847个DEGs,其中上调基因141个、下调基因4706个,下调基因居多。与碳代谢、多糖代谢以及木质素降解相关的基因*ugp1*、*ugp3*、*gls2*和*lac1*表达显著下调,这一现象可能与复合栽培料营养更均衡,速效碳、氮源更易利用有关^[12]。黄原平革菌在氮或碳限制条件下,与在营养充足的培养基中相比,过氧化物酶的表达量

增加,在单一碳源培养基中,许多编码碳水化合物活性酶的基因上调^[13]。这个过程中碳代谢物阻遏效应可能发挥作用,当培养基中存在更易利用的碳源时,真菌会主动抑制利用复杂碳源所需的关键酶基因表达^[14-15],以更低的代谢成本完成生长,这是一种高效的基因表达调控方式。据此推测,本研究复合基质中毛木耳代谢相关基因表达下调并非生长抑制,而是进入代谢更高效、能耗更低的“经济生长模式”,这一模式更利于菌丝快速生长、养分积累与子实体高效发育。

*snf1*编码的蛋白激酶是真核生物中碳代谢和能量稳态的核心调控因子,在葡萄糖受限的条件下,*Snf1*激酶复合物会对代谢相关基因的转录过程进行重新调节,调控替代碳源的代谢^[16]。在本研究中,复合栽培料中*snf1*基因表达显著下调,推测两种栽培料中碳代谢过程存在差异。棉籽壳处理栽培料碳源结构相对单一,葡萄糖代谢受限,菌丝通过上调*snf1*以启动替代碳源代谢通路;而复合栽培料碳源更丰富,碳胁迫减弱,*snf1*表达量随之降低。因此,在实际栽培过程中可通过优化栽培料碳氮配比,为菌丝体提供稳定的可利用碳源,减轻菌丝代谢负担,进而提高毛木耳菌丝转化率与稳产性。在糙皮侧耳中研究发现,*PoSnf1*可通过调控纤维二糖转运与纤维素酶基因表达影响木质纤维素利用^[17]。此外,在蛹虫草相关研究中,*Cmsnf1*除了与碳源利用相关外,还影响产孢、细胞自噬和氧化胁迫等过程^[18]。

转录因子*Skn7*是一种高度保守的真菌蛋白,参与多种生物过程,包括氧化应激适应、细胞壁生物合成、细胞周期和次生代谢等多种生物过程^[19]。已有研究表明,灵芝中*GlSkn7*调控细胞壁完整性和灵芝酸生物合成,在缺失株中,细胞壁合成相关基因显著下调,细胞中ROS含量和灵芝酸生物合成量显著增加^[20];灰盖鬼伞*Skn7*直接调节细胞内抗氧化酶和漆酶的表达,并且与*bHLH1*转录因子协同作用,保护其免受氧化应激的影响^[21];灰霉病菌缺失*Skn7*,会提升对离子渗透胁迫、氧化胁迫以及生物抑制剂的敏感性^[22]。本研究结果表明,在复合栽培料中,转录因子*Skn7*表达下调,说明*Skn7*在毛木耳适应不同栽培环境过程中发挥作用。单一棉籽壳基质通常物理化学胁迫性更强,其pH偏高、碳氮比失衡等问题对毛木耳构成一定环境胁迫^[23-24],复合栽培料透气性、持水性与营养成分更优,氧化胁迫减弱,*Skn7*介导的应激通路表达降低。

此外,研究发现,半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路显著富集,这与罗阳兰等^[11]的研究结果相似,其研究显示不同栽培料显著影响毛木耳半胱氨酸和蛋氨酸代谢物的积累;在羊肚菌的研究中,该通路在营养不足条件下显著上调,营养丰富时显著下调^[25]。表明这一通路可能参与毛木耳不同营养环境下的蛋白质合成。

综上,本研究通过转录组测序分析,明确了毛木耳在单一棉籽壳单培养料与玉米芯、木屑、棉籽壳复合料中的差异表达基因及富集通路。研究结果为解析毛木耳对复合栽培料的适应性代谢机制提供了重要的分子基础,也为优化毛木耳栽培料配方、实现优质高产提供了坚实的理论支撑。后续可对关键差异基因的功能进行验证,结合产量与农艺性状,进一步明确核心基因在生长发育与品质形成中的调控通路,完善毛木耳优质高效栽培技术体系。

参考文献

- [1] 马昱阳,贾凤娟,赵淑芳,等.毛木耳多糖的提取及生物活性的研究进展[J].中国食物与营养,2019,25(3):39-41.
- [2] 张波,苗人云,周洁,等.不同氮源配方栽培基质对毛木耳农艺性状、品质及生产效益的影响[J].南方农业学报,2017,48(12):2210-2217.
- [3] 罗阳兰,王灿琴,胡秀月,等.不同栽培基质毛木耳品质分析与评价[J].南方农业学报,2024,55(3):865-877.
- [4] 李鹏,向准,熊雪,等.不同栽培基质诱导对毛木耳产漆酶活性的影响[J].北方园艺,2021(24):129-135.
- [5] 吴小建,吴圣进,周敏,等.辣木屑栽培毛木耳配方筛选与子实体品质分析[J].中国食用菌,2020,39(9):15-17.
- [6] 崔筱,张玉亭,孔维丽,等.平菇生长发育过程中对 IAA 响应的转录组分析[J].河南农业科学,2022,51(12):97-109.
- [7] 刘慧杰,游潇轩,戈永杰,等.基于转录组挖掘香菇木质纤维素降解相关基因[J].食用菌学报,2024,31(4):33-45.
- [8] 周慧,蒋俊,徐倩,等.基于转录组和异速生长分析添加竹屑对香菇形态的影响[J/OL].分子植物育种,(2023-08-21)[2026-07-02].<https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20230820.1353.002>.
- [9] 赵新平,刘金玲,王昱峰,等.基于转录组测序的香菇耐热相关调控基因的筛选与分析[J].中国瓜菜,2025,38(10):18-28.
- [10] 陈天赐,袁滨,连燕萍,等.毛木耳子实体不同发育时期的转录组分析[J].菌物学报,2024,43(10):107-116.
- [11] 罗阳兰,陈丽新,王灿琴,等.三种基质栽培的毛木耳营养成分和子实体代谢物差异[J].菌物学报,2024,43(5):98-119.
- [12] 苏世贤,吴媛,刘翀,等.黑木耳 UGP 基因家族全基因组鉴定及其与菌丝生长多糖合成的相关性研究[J].种子,2024,43(4):69-80.
- [13] Amber V W, Jill G, Mike M, et al. Transcriptome and secretome analyses of *Phanerochaete chrysosporium* reveal complex patterns of gene expression[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(12):4058-4068.
- [14] Katoh H, Ohtani K, Yamamoto H, et al. Overexpression of a gene encoding a catabolite repression element in *alternaria citri* causes severe symptoms of black rot in citrus fruit[J]. Phytopathology, 2007, 97(5):557-63.
- [15] Ries L N A, Beattie S R, Espeso E A, et al. Diverse regulation of the cre carbon catabolite repressor in *Aspergillus nidulans*[J]. Genetics, 2016, 203(1):335-352.
- [16] Adnan M, Zheng W, Islam W, et al. Carbon catabolite repression in filamentous fungi[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 19(1):48.
- [17] Hu Y R, Dong H Z, Chen H L, et al. PoSnf1 affects cellulose utilization through interaction with cellobiose transporter in *Pleurotus ostreatus*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024(p1):275.
- [18] 王荣. 蛹虫草中 *CmSnf1* 基因的功能研究[D]. 上海:上海海洋大学,2016.
- [19] Fassler J S, West A H. Fungal Skn7 stress responses and their relationship to virulence[J]. Eukaryot Cell, 2011, 10(2):156-167.
- [20] Wang S L, Shi L, Hu Y R, et al. Roles of the Skn7 response regulator in stress resistance, cell wall integrity and GA biosynthesis in *Ganoderma lucidum*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2018, 114:12-23.
- [21] Zhao H, Pang N, Meng X, et al. The regulatory network of *Coprinopsis cinerea* transcription factor Skn7 collaborates with bHLH1 during fungal-fungal interactions[J]. Microbiology Spectrum, 2025, 13(9):e0048425.
- [22] Yang Q Q, Yin D F, Yin Y N, et al. The response regulator Bc-Skn7 is required for vegetative differentiation and adaptation to oxidative and osmotic stresses in *Botrytis cinerea*[J]. Molecular Plant Pathology, 2015, 16(3):276-87.
- [23] 黄映晖.不同栽培基质对毛木耳菌丝体生长的影响[J].安徽农业科学,2017,45(30):43-45.
- [24] 叶雷,谭伟,张伟伟,等.毛木耳代料栽培适宜碳氮比及菌棒中固碳、固氮细菌群落结构[J].应用与环境生物学报,2022,28(1):97-103.
- [25] Chen Y, Cao X L, Xie L Y, et al. Comparative transcriptomics and metabolomics provide insight into degeneration-related physiological mechanisms of *Morchella importuna* after long-term preservation[J]. Microbial Biotechnology, 2025, 18(2):e70045.