



DOI:10.14188/j.ajsh.20260012

基于 RNA-seq 的等离子体诱导草原黑蘑差异表达基因挖掘与分析

马 蕾,郭九峰,李前忠,续星宇,陈颖丽*

(内蒙古大学 物理科学与技术学院 内蒙古自治区生物物理与生物信息学重点实验室,内蒙古 呼和浩特 010021)

摘要: 研究以草原黑蘑原生质体为材料,采用等离子体诱变技术挖掘菌丝体生长明显加快的突变菌株,并以出发菌株为对照组、诱变后筛选得到处理组(A组)。对测序数据进行 *de novo* 组装与功能注释,结合差异表达基因分析和加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA),系统挖掘与草原黑蘑生长速度差异相关的关键代谢通路和候选基因。结果表明,A组与CK组共鉴定到1756个差异表达基因。GO富集分析及KEGG通路分析显示,碳代谢相关通路显著富集,且多数关键节点基因以上调表达为主,说明A组的碳代谢水平整体处于增强状态。使用WGCNA把生长性状显著相关的基因聚类到共表达模块。RT-qPCR结果显示,10个验证基因中有9个基因的表达趋势与转录组测序结果一致,支持转录组测序结果的可靠性。综合分析表明,草原黑蘑菌丝体生长速度的加快可能与中央碳代谢增强、细胞壁与膜系统重塑以及蛋白质稳态维持等过程的协同调控有关。本研究所筛得与生长调控相关的潜在基因可为草原黑蘑优良菌株的选育及关键的功能基因的研究提供理论依据。

关键词: 草原黑蘑;转录组分析;京都基因与基因组百科全书(KEGG);碳代谢;加权基因共表达网络分析(WGCNA);常温空气等离子体

中图分类号: S646

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2026)03-0271-11

RNA-seq-based analysis of plasma-induced differentially expressed genes in *Agaricus arvensis*

MA Lei, GUO Jiufeng, LI Qianzhong, XU Xingyu, CHEN Yingli*

(Inner Mongolia Key Laboratory of Biophysics and Bioinformatics, School of Physical Science and Technology, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, Inner Mongolia, China)

Abstract: Protoplasts of *Agaricus arvensis* were used to screen mutants with markedly accelerated mycelial growth by plasma mutagenesis. The original strain served as the control group (CK group), and a candidate mutant strain obtained from genetic screening for enhanced growth rate served as the treatment group (group A). Three biological replicates were prepared for each group for transcriptome sequencing. The sequencing data were subjected to *de novo* assembly and functional annotation. Differential gene expression analysis and weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) were then performed to systematically identify key metabolic pathways and candidate genes associated with differences in the growth rate of *Agaricus arvensis*. A total of 1756 differentially expressed genes were identified between

收稿日期: 2026-04-15 修回日期: 2026-05-21 接受日期: 2026-06-15

作者简介: 马蕾(2001-),女,硕士生,研究方向为生物物理与生物信息学,E-mail: ml052765@163.com

*通信作者: 陈颖丽(1974-),女,博士,教授,主要从事生物信息学研究,E-mail: stchenyl@imu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(62361047;32160216)

引用格式: 马蕾,郭九峰,李前忠,等. 基于 RNA-seq 的等离子体诱导草原黑蘑差异表达基因挖掘与分析[J]. 生物资源, 2026, 48(3): 271-281.

Ma L, Guo J F, Li Q Z, et al. RNA-seq-based analysis of plasma-induced differentially expressed genes in *Agaricus arvensis* [J]. Biotic Resources, 2026, 48(3): 271-281.

group A and CK group. GO (gene ontology) enrichment analysis and KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) pathway analysis revealed that carbon metabolism related pathways were significantly enriched, and most key hub genes were predominantly upregulated, indicating the overall enhancement of carbon metabolism in group A. The genes that were significantly correlated with growth traits were further clustered into co-expression modules by using of WGCNA. RT-qPCR results showed that 9 out of the 10 genes selected for validation exhibited expression trends consistent with the RNA-seq data, confirming the reliability of the transcriptome sequencing results. Comprehensive analysis indicated that the accelerated mycelial growth rate of *Agaricus arvensis* may be related to the coordinated regulation of enhanced central carbon metabolism, cell wall and membrane system remodeling, and protein homeostasis maintenance. The potential growth-regulating genes screened in this study lay a theoretical foundation for breeding superior strains of *Agaricus arvensis* and for studying key functional genes.

Key words: *Agaricus arvensis*; transcriptome analysis; Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG); carbon metabolism; Weighted Gene Co-expression Network Analysis(WGCNA); atmospheric and room temperature plasma

0 引言

草原黑蘑(*Agaricus arvensis*),隶属于蘑菇属,主要分布于中国北方草原^[1]。作为一种珍贵的野生食用菌资源,草原黑蘑富含蛋白质、多糖等多种营养及活性成分,具有较高的食用价值和生态价值^[2]。同时,该类蘑菇可以与牧草共同形成蘑菇圈,维持草原生态系统的平衡与稳定性^[3]。然而,草原黑蘑对生长环境较为敏感。近年来,受草原生态环境退化及自身生长缓慢、适应性差等因素制约,在自然条件下,草原黑蘑生物量日趋减少,资源保护迫在眉睫^[4]。

目前,关于草原黑蘑的研究多集中在分类鉴定、生态学特性以及营养成分等方面^[5],而对其优质生长及环境适应的遗传基础、关键功能基因及其作用机制的研究相对较少,不利于该类野生真菌资源的科学保护与合理利用^[6]。为了加强资源保护,选育生长速度快且质量优异的菌株,进行驯化和人工栽培,既有利于这一珍稀食用菌资源的开发与保护,又可带动市场,获得可观的经济效益。

随着基因组学和转录组学等多组学技术的发展,食用菌研究正逐步由表型观察向分子层面解析转变^[7]。多组学手段在揭示生长发育、代谢调控及环境适应性相关的功能基因方面已展现出显著优势^[8]。在此背景下,开展草原黑蘑种质资源创新及其关键功能基因研究,对于保护草原珍稀菌物、推动资源保护与可持续利用具有重要意义。因此,有必要从基因层面入手,开展草原黑蘑关键性状的研究,解析其生长、代谢过程中涉及的重要基因和调控通路,为优良性状的挖掘和优质菌种的选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试草原黑蘑菌株,由内蒙古自治区农牧业科学院蔬菜花卉研究所食用菌工程中心提供。以制备出的草原黑蘑原生质体作为诱变材料,在超净工作台内用等离子体装置(工作电压为5 kV,理论等离子体密度为 2.5×10^7 PCS/CM³)产生的常温空气等离子体进行处理。将原生质体稀释至 1×10^5 个/mL,取300 μ L铺于预制马铃薯葡萄糖琼脂固体培养基(PDA)的直径为7 cm的培养皿中,置于等离子体发生装置针尖下方约5 cm处进行常温空气等离子体诱变(ARTP)处理,时间梯度设为40、60和80 s;然后将培养皿置于生物培养箱内25 $^{\circ}$ C暗培养,结合再生情况、生长速度及拮抗实验进行筛选,从再生菌株中筛选出菌丝体质量优良、生长速率明显变快的突变菌株作为实验组(A组);将未经等离子体处理的原始菌株作为对照组(ck组)。每组均设置3个生物学重复(A1、A2、A3,ck1、ck2、ck3),菌丝体在PDA固体培养皿中培养后筛选最优菌株委托武汉华大基因技术服务有限公司进行转录组测序(RNA-seq)。

1.2 文库构建及测序

测序获得的原始图像数据经碱基识别后转化为原始序列数据。随后对原始序列数据进行过滤后获得高质量测序数据,并以测序通用格式保存。使用Trinity软件对高质量测序数据进行从头组装,采用CD-HIT软件对组装得到的转录本进行聚类去冗余,获得非冗余转录本集合。之后,使用Bowtie2软件将高质量测序数据比对至非冗余转录本集合,并通过RSEM软件计算基因和转录本的表达水平,最终转换为每千碱基转录本每百万比对片段数。进一步对组装获得的非冗余代表序列进行功能数据库注

释,获得相应的基因功能注释信息。

1.3 差异表达基因筛选及富集分析

根据各个样品基因表达水平,用DESeq2软件对A组与ck组进行差异表达基因检测,差异表达基因筛选的阈值为 $|\log_2\text{FoldChange}| \geq 0.4$ 、 $\text{padj} < 0.05$,用火山图比较差异表达基因的分布情况,对筛选出的差异表达基因进行GO功能富集和KEGG通路分析,从而获得差异表达基因的主要生物学功能及主要生物化学代谢途径。

1.4 WGCNA 分析

基于差异表达基因,进一步采用加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis,WGCNA)构建基因共表达网络,识别与目标表型相关的共表达基因模块及其枢纽基因(hub genes)。通过分析基因在不同样本中的表达模式,识别协同表达的基因集合,评估模块内基因的关联强度及其与表型特征的相关性,从而揭示基因网络与生物学表型之间的关系,筛选出与目标表型显著相关的基因模块。进一步结合Cytoscape3.10.3对模块网络进行可视化,筛选模块中连接度较高的枢纽基因,并挖掘关键的生长调控候选基因。

1.5 RT-qPCR 验证

为验证转录组测序数据中差异表达基因表达趋势的可靠性,选取与中央碳代谢、细胞壁调控、谷胱甘肽代谢及蛋白质稳态相关的候选基因进行RT-qPCR分析。采用SYBR Green荧光定量体系进行扩增。每个样品设置3个生物学重复和3个技术重复。采用2- ΔCt 法计算候选基因的相对表达量,并将RT-qPCR结果与转录组测序表达趋势进行比较,以评价转录组测序结果的可靠性。

2 结果与分析

2.1 转录组测序、组装结果分析

对草原黑蘑诱变前后6个样品转录组测序,然后对原始数据进行过滤,得到结果如表1所示,各样

品经质量过滤后保留下来的高质量测序碱基数量均达到6.25 Gb,基因集的平均比对率为86.57%,每个样本的Q20值均大于98%,Q30值均大于92%,经组装共得到33 486条非冗余代表序列,N50为1 995,GC含量均大于47%,使用BUSCO对组装完整性进行评估,所有样本的完整性均在95%以上,表明本实验测序数据质量好、覆盖率高,组装质量整体较高,可用于后续分析。

为了反映样本间基因表达的相关性,计算了每两个样品之间所有基因表达量的皮尔逊(Pearson)相关系数,结果如图1所示,各生物学重复整体一致性较高,未发现明显离群样本,说明实验组和对照组之间基因表达存在差异。

2.2 差异表达基因的筛选

为挖掘在等离子体诱变下促进草原黑蘑菌丝体

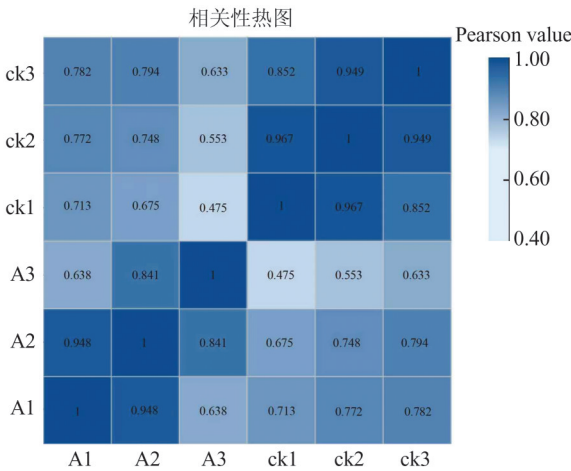


图1 样品间基因表达量的皮尔逊相关性系数热图
Figure 1 Heatmap of Pearson correlation coefficients among samples based on gene expression levels

注:A3与A1的相关性相对较低($r = 0.638$),但其与A2仍保持较高一致性($r = 0.841$),且未呈现系统偏离特征,因而予以保留。

Note: Although the correlation between A3 and A1 was relatively low ($r = 0.638$), A3 remained highly consistent with A2 ($r = 0.841$) and showed no evidence of systematic deviation, therefore it was retained.

表1 测序数据统计
Table 1 Sequencing data statistics

样品	原始序列/M	过滤后序列/M	过滤后的碱基数/ Gb	碱基质量值 Q20/%	碱基质量值 Q30/%	比对到非冗余转 录本集合/%
A1	21.89	21.89	6.57	98.70	95.65	86.10
A2	22.09	22.09	6.63	98.97	94.72	87.26
A3	20.83	20.83	6.25	98.56	92.73	87.28
ck1	21.84	21.84	6.55	98.41	94.73	85.13
ck2	23.04	22.10	6.63	98.45	94.28	86.41
ck3	22.03	22.03	6.61	98.61	92.81	87.22

生长的关键基因,对A组与CK组样品进行基因表达量比较分析,筛选 $|\log_2\text{FoldChange}|\geq 0.4$ 、 $\text{padj}<0.05$ 的基因作为差异表达基因,得到差异表达基因(DEGs)共1756个,其中上调基因数为1196个,下调基因数为560个,如图2所示。

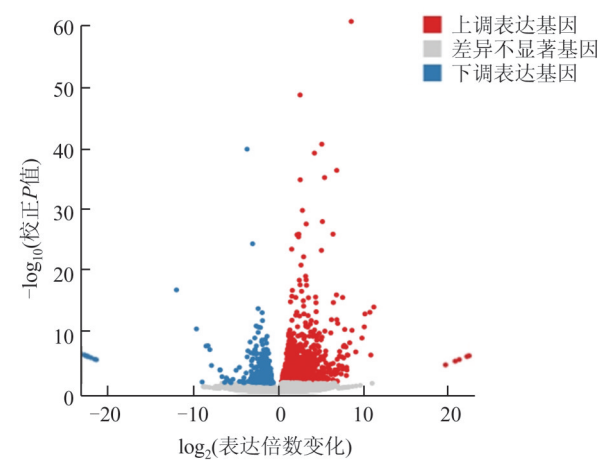


图2 差异表达基因火山图

Figure 2 Volcano plot of differentially expressed genes (DEGs)

2.3 差异表达基因的GO功能富集及KEGG代谢通路分析

根据GO注释结果探究差异表达基因的主要生

物学功能,差异表达基因按照功能被注释到生物过程、细胞组分、分子功能3个组类的47个小类中,对其进行富集并展示 q 值最小的前20个GO条目,如图3所示。在细胞组分方面,基因显著富集于膜系统、细胞壁及胞外区域等条目,表明生长过程中细胞通过强化膜完整性及细胞壁构建,为菌丝扩展提供结构基础。在生物学过程方面,基因显著富集于代谢重组与胁迫响应过程,包括谷胱甘肽代谢、鞘脂与脯氨酸合成、脂肪酸延伸及蛋白质重折叠等条目,反映出细胞在抗氧化防御、膜脂合成等方面所具备的调节作用。在分子功能方面,富集于催化与转移酶活性,包括谷胱甘肽转移酶、脂肪酸延伸酶等关键酶类,从功能上支持相关代谢通路的运行。

鞘脂生物合成过程、内质网腔、真菌型细胞壁、伴侣蛋白辅因子依赖的蛋白质重折叠、细胞壁的结构组成成分、极长链脂肪酸生物合成过程、精氨酸经鸟氨酸向脯氨酸的分解代谢过程、饱和脂肪酸延长过程、精氨酸分解代谢至谷氨酸的过程、单不饱和脂肪酸延长过程、多不饱和脂肪酸延长过程、鸟氨酸- α -酮酸转氨酶活性及脂肪酸延伸酶活性通路中富集到的基因全部上调表达,为菌丝体生长速度的提升提供代谢与结构基础。同时,参与鞘脂降解途径的葡萄糖神经酰胺酶活性所富集到的基因全部下调表

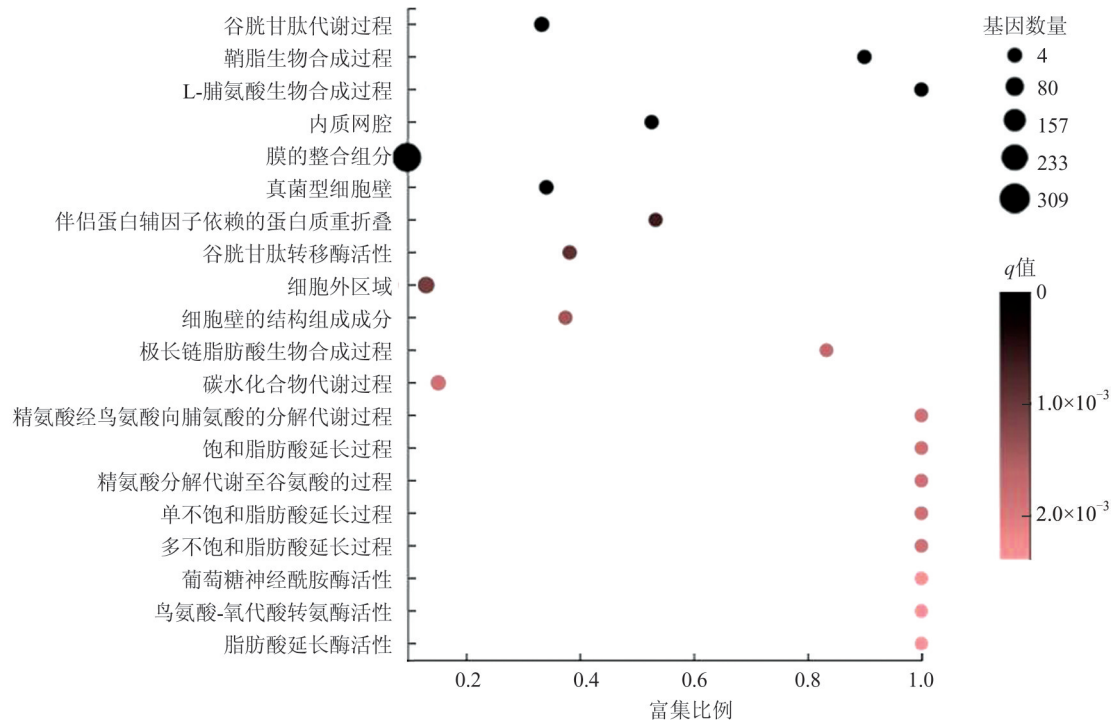


图3 差异表达基因的GO富集分析

Figure 3 GO enrichment analysis of DEGs

注:纵坐标表示GO功能条目;气泡大小表示基因数量,颜色表示 q 值。
Note: The Y-axis represents GO terms. Bubble size indicates gene number, and color indicates q value.

达,可能进一步促进了鞘脂类物质的积累。

对差异表达基因进行KEGG代谢通路富集分析,主要参与KEGG代谢通路的5个分支:细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、代谢、有机系统,根据KEGG代谢通路注释分类,对其进行富集分析并对 q 值最小的前20条通路进行展示,如图4所示。富集到的通路为:代谢物生物合成、谷胱甘肽代谢、鞘脂代谢、脂肪酸延长、精氨酸和脯氨酸代谢、戊糖磷酸途径、牛磺酸和次牛磺酸代谢、内质网蛋白加工、碳代谢、 N -聚糖生物合成、精氨酸生物合成、其他聚糖降解、糖酵解/糖异生、三羧酸循环(TCA)、碳青霉烯类生物合成、氨基酸生物合成、果糖和甘露糖代谢、甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸代谢以及抗坏血酸和醛酸代谢。其中的脂肪酸延长、 N -聚糖生物合成、精氨酸生物合成、TCA等途径富集到的基因全部上调表达,提示草原黑蘑生长速度加快可能是能量代谢(糖酵解、TCA)、结构合成(脂肪酸延长、鞘脂代谢、 N -聚糖生物合成)和胁迫响应(谷胱甘肽代谢、脯氨酸合成)等通路的协同作用。

2.4 相关KEGG通路分析

戊糖磷酸途径(pentose phosphate pathway, PPP)与糖酵解/糖异生(glycolysis/gluconeogenesis)和TCA循环途径共同构成中央碳代谢网络,通路间

碳分配的作用决定了细胞生长、生物量的合成和积累能力^[9]。本研究中的差异表达基因功能注释与通路富集分析显示,处理组在与中央碳代谢和能量转换相关的关键通路中发生了协同调控,在有氧条件下,草原黑蘑细胞以葡萄糖为碳源,通过糖酵解生成丙酮酸并进入线粒体,经乙酰辅酶A进入TCA,这是细胞能量代谢与碳代谢的核心路径。

在糖酵解/糖异生通路中,富集到16个差异表达基因,分布在10个关键反应节点,如图5所示,主要参与葡萄糖活化、丙酮酸生成等过程。其中,己糖激酶、磷酸葡萄糖异构酶等糖酵解起始节点上调表达,提示葡萄糖利用及代谢启动能力增强;同时,果糖-1,6-二磷酸醛缩酶、丙酮酸激酶等下游节点上调,表明碳流更倾向于向丙酮酸方向转化。相对而言,部分糖异生关键节点未同步上调,说明碳源主要用于能量生成和合成代谢,而非储存。

与糖酵解通路中碳流增强的变化相一致,PPP中共有13个差异表达基因分布于10个关键节点,如图6所示,表明在碳输入增加的背景下,部分碳流被分流至该通路。其氧化阶段关键酶(如葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶)上调,显示细胞在碳通量提高的同时增强了NADPH的生成能力,为脂质合成及谷胱甘肽介导的抗氧化过程提

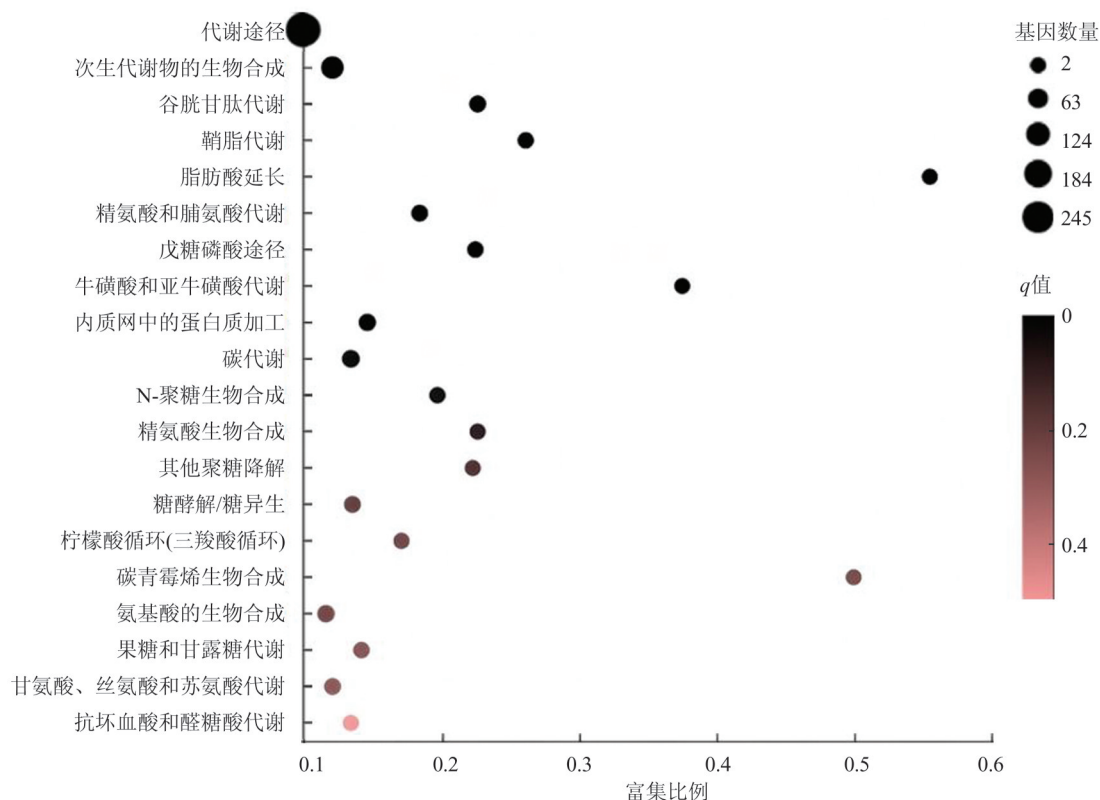
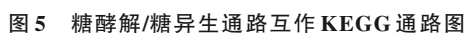


图4 差异表达基因的KEGG富集分析

Figure 4 KEGG enrichment analysis of DEGs



注:图中标红节点为上调表达节点,标绿节点为下调表达节点。

Note: Nodes highlighted in red represent up-regulated genes, while nodes highlighted in green represent down-regulated genes.

2.5 WGCNA分析鉴定草原黑蘑生长速度加快的关键基因

采用 WGCNA 对差异表达基因进行进一步分析, 相关度较高的基因被分配到同一个模块中, 样本层次聚类结果显示 6 个样本均无离群现象。采用 ward.D2 算法进行层次聚类, 设定最小模块大小为 $\text{minModuleSize}=150$, 将表达模式相似的基因归类至不同颜色模块。通过计算各模块的特征表达值并绘制模块与表型之间的相关性热图, 依据皮尔逊相关系数及 P 值 ($P<0.05$) 选择图 8 中与目标性状最显著相关 ($r=0.96, P=0.002$) 的黑色模块。

进一步筛选模块内前150个基因-基因调控对,共48个基因作为模块的hub基因,用Cytoscape软件保留节点连接度大于4的调控对进行基因调控网络可视化,如图9所示。

对目标基因集进行GO功能分析显示,其主要位于膜内在成分和内质网膜等细胞结构,涉及多种与氧化还原调控和蛋白加工相关的分子功能。上述结果表明,该基因集可能通过增强内质网介导的蛋白质加工与糖基化能力、维持膜系统稳定性以及提高抗氧化防御水平^[11],协同支撑草原黑蘑菇丝生长与生物量积累,从而在其快速生长过程中发挥重要

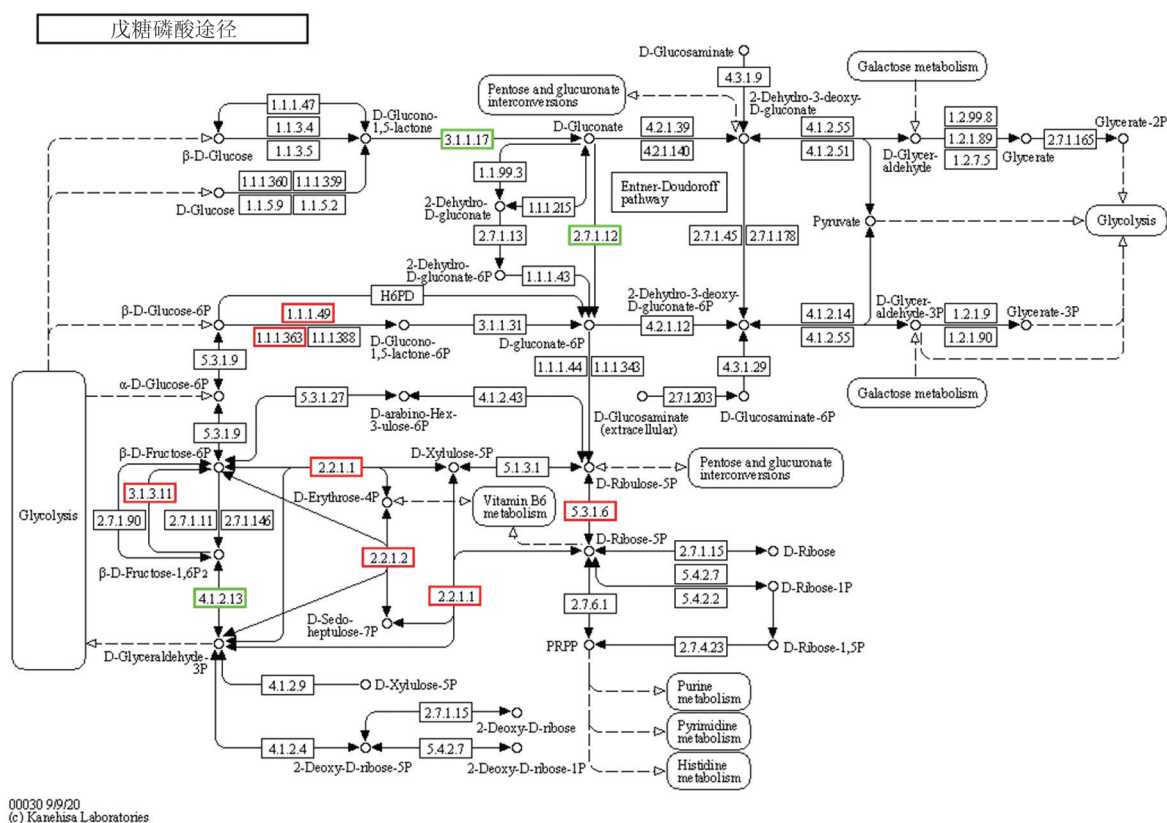
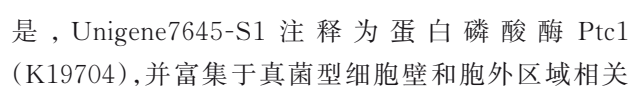


图6 戊糖磷酸途径通路互作KEGG通路图

Figure 6 KEGG pathway map of pentose phosphate pathway



GO 条目,提示其可能参与细胞壁结构调控过程,其在处理组中显著上调,表明细胞可能通过加强细胞壁完整性相关调控来维持结构稳定并适应快速生长的需求^[12-13],已有研究表明,Ptc1 类蛋白磷酸酶可通过调控 MAPK 及相关应激信号通路以及调节细胞壁合成相关酶的磷酸化状态,在细胞生长与环境响应过程中发挥重要调节作用^[14]。这与前文富集分析的结果相呼应,为后续性状验证提供了候选的通路与基因基础。

2.6 候选差异表达基因的 RT-qPCR 验证

以 AbActin 和 AbEFa 作为内参基因,选取包括上述分析所得的候选关键差异表达基因在内的 10 个基因进行 RT-qPCR 分析,结果如图 10 所示。根据实验组与对照组之间基因表达量的倍数变化及 P 值对表达差异进行统计标注,P 值越小代表表达差异越显著,图中处理组 7 个基因显著上调,2 个基因显著下调,1 个基因虽呈上调趋势但差异不显著。

如表 2 所示,各基因的 qRT-PCR 表达变化趋势与转录组测序结果基本一致,仅 J 基因表达不一致,进一步支持了转录组测序结果及候选基因筛选结果的可靠性,为前文挖掘得到的候选关键基因提供了支持。

3 讨 论

已有研究认为,糖酵解、PPP 和 TCA 等中央碳代谢通路通过碳通量分配共同影响细胞生长、生物量积累和合成能力^[9]。单一代谢酶的调控难以改变整体表型,需将 PPP 置于中央代谢网络中理解其功能,并从网络层面说明其通过与其他通路协同调控碳流,为合成代谢和生物量形成提供物质基础;关于蟹味菇(*Hypsizygus marmoreus*)的研究中分析了中央碳代谢对菌丝生长和生产性状的影响,通过分子生物学手段提高了 PPP 中关键酶 G6PDH 的表达水平,处理组菌丝生长速率明显加快,表现出显著提升

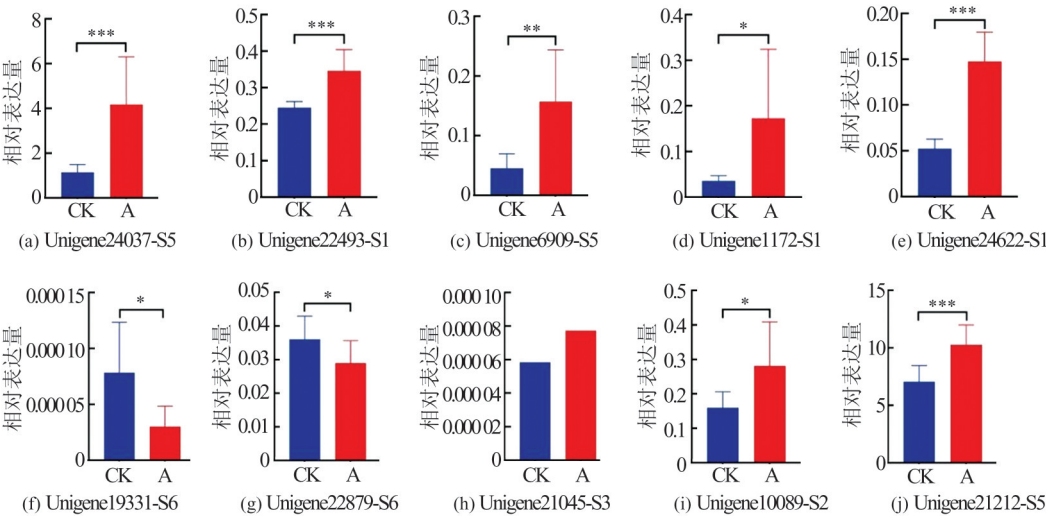


图 10 草原黑蘑响应等离子体处理差异表达基因的 RT-qPCR 验证

Figure 10 RT-qPCR validation of differentially expressed genes in *Agaricus arvensis* after plasma treatment

注:*,**和***分别对应 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 。

Note: *, ** and *** indicate $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively.

表 2 转录组测序与 RT-qPCR 的基因表达验证结果比较

Table 2 Comparison of RNA-seq and RT-qPCR analyses for gene expression validation

比较组别	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)
	RN RT	RN RT	RN RT	RN RT	RN RT	RN RT	RN RT	RN RT	RN RT	RN RT
A vs ck	↑ ↑	↑ ↑	↑ ↑	↑ ↑	↑ ↑	↓ ↓	↓ ↓	↑ ↑	↑ ↑	↓ ↑

注:表中(a)~(j)基因为 Unigene24037-S5、Unigene22493-S1、Unigene6909-S5、Unigene1172-S2、Unigene24622-S1、Unigene19331-S6、Unigene22879-S6、Unigene21045-S3、Unigene10089-S2、Unigene21212-S5,与图 10 中(a)~(j)基因名称对应;“RN”代表转录组测序结果,“RT”代表 RT-qPCR 结果;“↑”代表基因上调表达,“↓”代表基因下调表达。

Note: Genes (a) — (j) in the table correspond to Unigene24037-S5, Unigene22493-S1, Unigene6909-S5, Unigene1172-S2, Unigene24622-S1, Unigene19331-S6, Unigene22879-S6, Unigene21045-S3, Unigene10089-S2 and Unigene21212-S5, respectively, and are consistent with the gene labels (a) — (j) in Figure 10. “RN” represents the RNA-seq results, and “RT” represents the RT-qPCR results. “↑” indicates up-regulated gene expression, whereas “↓” indicates down-regulated gene expression.

的葡萄糖利用能力和PPP相关代谢活性,这点与本研究结果相吻合,其菌丝生长速率及出菇周期明显加快。进一步的栽培实验结果显示,G6PDH表达增强可使蟹味菇出菇周期缩短约4~5 d,同时单袋产量提高约7.4%^[15]。在本研究中,诱变处理后的样品同样表现出PPP关键酶G6PDH及非氧化支路酶的协同上调,表明其细胞内部对碳源的利用方式更有利于生物合成和生长,这为其生长速度提升提供了重要的参考。除关键酶G6PDH表达量增强外,非氧化支路关键酶也同步上调,G6PDH的上调增强了PPP的入口通量,而非氧化支路相关酶的激活则提高了前体的供给能力,使碳更倾向于支持核苷酸合成、氨基酸合成以及细胞结构与生物量的积累^[16]。结合已有研究对PPP作为中央代谢枢纽在增强真菌环境适应能力和生产率中的作用^[17],本研究通过诱变处理获得了代谢特征相似、但更接近天然调控状态的PPP激活模式。

同时,关于蟹味菇生长促进机制的代谢组学研究中指出,中央碳代谢中PPP的增强可提高糖酵解与TCA的运行效率,从而显著提升细胞能量供给水平。其结果表明,TCA关键中间代谢物及ATP/ADP比值的升高,不仅有利于能量生成,同时通过连接氨基酸代谢促进生物量积累,为菌丝快速生长和后续发育提供代谢基础^[18]。在本研究中,TCA及糖酵解通路的显著富集及关键节点的整体上调,表明诱变处理后草原黑蘑中央碳代谢呈现协同增强特征。结合差异表达基因功能注释结果可以看出,糖酵解关键节点的上调增强了葡萄糖向丙酮酸转化的能力,而TCA通路中关键节点的上调,则有利于丙酮酸进入线粒体并参与中央碳代谢运行,从而为细胞提供能量生成的潜力及多种生物合成所需的中间代谢物。综合来看,样品经诱变处理后的中央碳代谢状态整体增强,且该状态在代谢层面上为菌丝生长和生物量积累提供了有利条件,推测诱变处理可能通过重塑中央碳代谢网络,为样品后续生长性能提升及增产奠定了重要基础。总体来看,这些变化在代谢和功能层面上共同指向一种有利于生物量积累的状态,为生长速度提升性状提供了合理的基础。

对于hspa9同源基因(Unigene22493-S1)上调表达,已有研究通过拟南芥mtHSC70-1缺失突变体的表型与机制分析表明,线粒体Hsp70功能受损会导致明显的生长发育缺陷,并出现胚胎发育异常等表型,提示其对高能量需求发育阶段的线粒体功能维持具有重要作用^[19];而通过生化分析强调Ssc1作为线粒体基质的主要Hsp70,参与胞质蛋白向线粒体

基质的转运及其后续折叠过程,解释了其为何会直接影响呼吸代谢与细胞生长能力^[20]。本研究中,hspa9同源基因在处理组中上调,属于线粒体Hsp70分子伴侣家族,主要参与核编码线粒体蛋白的导入、折叠与装配,并在维持线粒体稳态和能量代谢连续性中发挥关键作用。此基因往往在高代谢、生长活跃情况下上调,保障线粒体在复杂代谢环境中稳定运行。

4 结 论

综合以上结果可知,常温空气等离子体处理草原黑蘑原生质体可诱导基因表达的广泛变化,对这些差异表达基因的GO功能富集及KEGG代谢通路分析表明,试验组表现出以中央碳代谢重新分配为核心的变化特点,其中PPP和TCA关键酶的协同上调,表明其细胞内部对碳源的利用方式更有利于生物合成和生长。而细胞壁相关通路以及膜脂和鞘脂代谢的上调,表明这种增长在结构构建方面有所体现,从而支持菌丝体实现快速增长。总体来看,这些变化在代谢和功能层面上共同指向一种有利于生物量积累的状态,为快速生长的性状提供了合理的基础与解释,同时潜在候选基因的上调维持了菌丝体在高速生长压力下生命活动的稳定,过程中筛选所得草原黑蘑菌丝体加快生长速度的关键调控潜在基因的具体功能仍需后续通过药理学实验、遗传突变体表型分析或基因编辑等方法进一步验证。

参考文献

- [1] Atkinson G F. The development of *Agaricus arvensis* and *A. comtulus* [J]. American Journal of Botany, 1914, 1(1): 3-22.
- [2] 解亚杰,孙国琴,庞杰,等. 草原野生食用菌蒙古口蘑的研究进展 [J]. 食药菌, 2017, 25(1): 28-33.
Xie Y J, Sun G Q, Pang J, et al. Research advancement on wild edible mushroom *Tricholoma mongolicum* [J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2017, 25(1): 28-33.
- [3] Liu M H, Wei Y Q, Lian L, et al. Macrofungi promote SOC decomposition and weaken sequestration by modulating soil microbial function in temperate steppe [J]. Science of the Total Environment, 2023, 899: 165556.
- [4] Wang H Y, Lu Y N, Li Y J, et al. Combining transcriptome- and metabolome-analyzed differentially expressed genes and differential metabolites in development period of caoyuanheimo-1 (*Agaricus* sp.) from Inner Mongolia, China [J]. Horticulturae, 2024, 10

- (5): 469.
- [5] 王莉梅, 王晓冬, 孙国琴, 等. 白鳞蘑菇的营养成分评价及其成熟度对品质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(16): 115-121, 127.
- Wang L M, Wang X D, Sun G Q, et al. Nutritional components of *Agaricus bernardii* and effects of maturity on its nutritional quality [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(16): 115-121, 127.
- [6] Cao B, He M Q, Ling Z L, et al. A revision of *Agaricus* section *Arvenses* with nine new species from China [J]. Mycologia, 2021, 113(1): 191-211.
- [7] Cao L P, Zhang Q, Miao R Y, et al. Application of omics technology in the research on edible fungi [J]. Current Research in Food Science, 2023, 6: 100430.
- [8] 宋尚桥, 马围围, 张超龙, 等. 基于转录组测序生物信息学分析的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2020, 47(2): 392-398.
- Song S Q, Ma W W, Zhang C L, et al. Advances in bioinformatics analysis based on transcriptome sequencing [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2020, 47(2): 392-398.
- [9] Chroumpi T, Mäkelä M R, de Vries R P. Engineering of primary carbon metabolism in filamentous fungi [J]. Biotechnology Advances, 2020, 43: 107551.
- [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): 104-113.
- Chen T C, Yuan B, Lian Y P, et al. Transcriptome analysis of *Auricularia cornea* fruiting bodies at different developmental stages [J]. Mycosystema, 2024, 43(10): 104-113.
- [11] Wang Y X, Chen K J, Zhang Y, et al. Functions of N-glycosylation-related endoplasmic reticulum proteins in the development and virulence of plant pathogens [J]. Journal of Fungi, 2025, 11(11): 791.
- [12] Hidayat G A, Saskiawan I, Ekowati N. The preliminary study of cell membrane stability of *Pleurotus ostrea-tus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm strains related to the production of fruiting body [J]. International Journal of Agricultural Technology, 2019, 15(4): 593-604.
- [13] Gao Y, Wang Y, Qian J, et al. Melatonin enhances the cadmium tolerance of mushrooms through antioxidant-related metabolites and enzymes [J]. Food Chemistry, 2020, 330: 127263.
- [14] Sanz A B, García R, Rodríguez-Peña J M, et al. The CWI pathway: regulation of the transcriptional adaptive response to cell wall stress in yeast [J]. Journal of Fungi, 2018, 4(1): 1.
- [15] Lin H, Li P F, Ma L, et al. Analysis and modification of central carbon metabolism in *Hypsizygus marmoreus* for improving mycelial growth performance and fruiting body yield [J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1233512.
- [16] Masi A, Mach R L, Mach-Aigner A R. The pentose phosphate pathway in industrially relevant fungi: crucial insights for bioprocessing [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2021, 105(10): 4017-4031.
- [17] Ceccaroli P, Buffalini M, Saltarelli R, et al. Genomic profiling of carbohydrate metabolism in the ectomycorrhizal fungus *Tuber melanosporum* [J]. New Phytologist, 2011, 189(3): 751-764.
- [18] Cao J X, Xie J C, Yu M M, et al. The promoting mechanism of the sterile fermentation filtrate of *Serratia odorifera* on *Hypsizygus marmoreus* by means of metabolomics analysis [J]. Biomolecules, 2023, 13(12): 1804.
- [19] Li G C, Li Z T, Yang Z Y, et al. Mitochondrial heat-shock cognate protein 70 contributes to auxin-mediated embryo development [J]. Plant Physiology, 2021, 186(2): 1101-1121.
- [20] Liu Q L, Krzewska J, Liberek K, et al. Mitochondrial Hsp70 Ssc1: role in protein folding [J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9): 6112-6118.