

工厂化双孢蘑菇不同降温刺激后的转录组分析

陆娜, 宋吉玲, 闫静, 王伟科, 周祖法, 黄小苏, 袁卫东
(杭州市农业科学研究院, 杭州 310024)

摘要: 为了探究双孢蘑菇降温结实的分子机制, 本实验以双孢蘑菇 W192 为对象, 在催蕾期利用高通量 RNA 测序技术对通过 4 d、6 d、8 d 把环境温度由 21.5 °C 匀速降到 17.5 °C 处理后的菌丝体进行基因表达分析. 分析结果 6 d 有 1481 个差异表达基因, 较 8 d 和 4 d 分别高出 6.9% 和 34%. GO (Go Ontology) 功能聚类分析表明, 差异基因在细胞组分和生物学过程中分布较多, 其中 6 d 除了在代谢、细胞过程中差异基因占优外, 在胁迫响应、子实体分化和发育过程等条目下的差异基因明显并基本为上调表达, 而 4 d 和 8 d 并没有出现这类差异基因, 同时, 6 d 的差异表达基因参与的细胞内进行各种氨基酸和糖代谢更明显. KEGG 通路 (pathway) 功能富集分析表明差异表达基因主要富集在氨基酸和抗生素生物合成通路上, 其中 6 d 在糖酵解和核糖体生物合成通路富集, 而 4 d 和 8 d 未出现. 4 d、6 d 降温刺激容易高产, 但 4 d 出菇早, 密度高, 分层不明显等导致菇型受到影响, 6 d 更加稳产保质. 本研究揭示了在不同降温刺激下的菌丝体的表达模式, 可用于指导工厂化双孢蘑菇催蕾期环境调控.

关键词: 双孢蘑菇; 降温刺激; 原基; 差异基因

中图分类号: S646.9 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2022.026002

Transcriptome analysis of industrial *Agaricus bisporus* after different cooling stimuli at pinhead out-grow stage

LU Na, SONG Ji-Ling, YAN Jing, WANG Wei-Ke,
ZHOU Zu-Fa, HUANG Xiao-Su, YUAN Wei-Dong
(Hangzhou Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310024, China)

Abstract: In order to explore the molecular mechanism of *Agaricus bisporus* cooling and fruiting, this experiment took *Agaricus bisporus* W192 as the object. High-throughput RNA sequencing technology was used to analyze the gene expression of mycelium treated with the ambient temperature lowered from 21.5 °C to 17.5 °C at a constant rate for 4 d, 6 d and 8 d. There were 1481 differentially expressed genes in 6 d, which were 6.9% and 34% higher than 8 d and 4 d, respectively. Functional clustering analysis of GO Ontology (GO Ontology) showed that differential genes were more distributed in cellular components and biological processes, of which 6 d was dominant in metabolic and cellular processes. In addition, the differential genes under stress response and fruit body differentiation items were obviously and basically up-regulated. However, no such differentially expressed genes appeared on 4 d and 8 d, and the differentially expressed genes on 6 d were more obviously involved in the metabolism of various amino acids and sugars in cells. Functional enrichment analysis of KEGG pathway showed that the differen-

收稿日期: 2021-07-19
基金项目: 浙江省农业重大技术协同推广项目(2019syj3-2); 国家食用菌产业技术体系(CARS-20)
作者简介: 陆娜(1983-), 女, 重庆人, 高级农艺师, 主要从事食用菌栽培及技术推广. E-mail: 13738068366@163.com
通讯作者: 袁卫东. E-mail: ywd0507@126.com

tially expressed genes were mainly enriched in amino acid and antibiotic biosynthesis pathways, of which 6 d was enriched in glycolysis and ribosomal biosynthesis pathways, while 4 d and 8 d did not. On 4 d and 6 d, the cooling stimulation was easy to produce high yield, but on 4 d, the fruiting was early, the density was high, and the stratification was not obvious which would affect the mushroom type. On 6 d, the yield and quality were more stable. This study revealed the expression patterns of mycelium under different cooling stimuli, which provided a scientific theory for environmental regulation of industrial *Agaricus bisporus* during bud stimulating stage.

Keywords: *Agaricus bisporus*; Cold stimulation; Pinhead out-grow; Differential genes

1 引言

双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)又称白蘑菇、蘑菇、洋蘑菇,它是世界性栽培和消费的菇类,有"世界菇"之称^[1]. 浙江省也作为全国双孢蘑菇主产区之一,主要采用工厂化栽培方式,产量高,质量优,且能周年生产. 在工厂化双孢蘑菇栽培中,双孢蘑菇营养生长阶段,环境条件主要以保持高温湿等环境状态,但转入生殖生长阶段,则需要一个“冷却—降温”的过程,保持相对较低的温湿度,所谓催蕾就是采用人工干预环境温度的方法让蘑菇菌丝从营养生长状态转为生殖状态,所以工厂化能实现利用降温刺激调控原基发育并直接影响后期双孢蘑菇子实体收获的统一性及商品性^[2]. 目前,工厂化双孢蘑菇生产中频繁出现菇蕾生长不均匀,层次不明显、球菇发生等问题,影响了双孢蘑菇的产量及品质,不利于产业健康发展,这些都是由于催蕾期双孢蘑菇菌丝发育到菌丝扭结形成原基过程中的分子机制、一系列基因协调作用的过程尚未清楚^[3]导致了催蕾技术的不完善. 因此,深入了解双孢蘑菇催蕾期至原基生长发育中整体基因表达情况,对差异表达基因进行功能注释、分类并解析其代谢途径,为阐明双孢蘑菇原基分化发育的分子机理提供理论基础.

近年来,随着后基因组时代的到来,诸如转录组学、蛋白质组学等新兴分子生物学技术的相继出现,为食用菌生长发育分子机制研究提供了众多方法. 如在秀珍菇(*Pleurotus pulmonarius*)冷刺激时期的转录组分析中找到 *PpSln1* 和 *PpHog1* 基因表达起重要作用^[4]. 双孢蘑菇 AS2796、灰树花(*grifola frondosa*, *maitake*)等子实体不同发育时期转录组分析获得了大量转录本信息^[5,6],虽然双孢蘑菇的全基因组序列测定已经完成,但大量的研究只在于不同发育阶段的进行了转录组分析,但针对双孢蘑菇催蕾期菌丝发育至原基过程中的基因表达规律都未见报道.

本实验基于双孢蘑菇催蕾期对其原基、子实体发育的重要影响,选用催蕾期不同降温刺激的下的菌丝体为材料,运用转录组测序技术进行研究分析,以期筛选出催蕾降温开始至子实体时期差异表达基因,并利用生物信息学方法对筛选得到的差异表达基因进行功能注释、分类并解析其代谢途径,全面分析双孢蘑菇催蕾期不同降温刺激下菌丝生长、原基形成的关键基因,结合蘑菇产量和质量指标最终确定最佳降温刺激时长,进一步完善双孢蘑菇催蕾技术,促进产业健康发展.

2 材料与方法

2.1 材料

供试菌株为双孢蘑菇品种 W192,实验在浙江省嘉善市宁远农业开发有限公司工厂化出菇房进行培养及样品采集. 双孢蘑菇经过播种、覆土、搔菌后进入从 21.5 °C 匀速降到 17.5 °C 的降温刺激催蕾阶段,选取降温刺激 0 d、4 d、6 d、8 d 的覆土层内菌丝体,每个处理设置 3 次重复,将采集到的菌丝体样品(10 g)立即移至液氮冷冻罐并放于超低温(−80 °C)冰箱.

2.2 方法

2.2.1 双孢蘑菇不同样品总 RNA 样品提取及质量检测 采用 RNA 试剂盒提取待测样品总 RNA,使用 Nanodrop 检测 RNA 的浓度、纯度(OD_{260}/OD_{280} 、 OD_{260}/OD_{230})、核酸吸收峰. 用 Agilent2100 进一步精确检测 RNA 的 RIN 值、28 S/18 S、5 S 峰等指标评价其完整性. 样品检测合格后,进行文库构建,使用 Q-PCR 方法对文库的有效浓度(文库有效浓度>2 nmol/L)进行准确定量,以保证文库质量. 库检合格后,不同文库按照目标下机数据量进行 pooling,用 Illumina 平台进行测序.

2.2.2 数据组装、表达量注释及差异表达基因的筛选 将下机数据进行过滤得到 Clean Data,利用 HISAT2、StringTie 与指定的参考基因组进行序列比对、组装和定量,得到的 Mapped Data 进行文

库质量评估和结构水平分析. 采用 FPKM(Fragments Per Kilobase of transcript per Million fragments mapped)方法计算每个注释基因的表达量, 获得 0vs4d、0vs6d、0vs8d 的基因的 FPKM 值. 并用 DEseq 法筛选两个样本之间的差异表达基因集, 所得的 P 值使用 Benjamini 和 Hochberg 的方法进行调整, 以控制 FDR(False Discovery Rate), DEseq 发现 P 值 <0.05 的基因被分配为差异表达基因.

2.2.3 差异表达基因 GO 分类 基于 Wallenius 非中心超几何分布^[7] 的 GoseqR 软件包用于筛选出差异表达基因(DEGs)的基因本体(GO)富集分析.

2.2.4 Pathway 富集分析 使用 KOBAS^[8] 软件测试 KEGG 途径中差异表达基因的统计富集.

2.2.5 生长趋势及产量记录 采用 0 d、4 d、6 d、8 d 降温刺激进行催蕾出菇, 每个处理为 1 个出菇房, 随机选取不同高度的菇架进行长势观察及产量记录, 设置 3 个重复, 每个重复面积为 10 m², 记载原基形成、出菇的时间、整齐度、层次、产量、子实体的数量性状、优质菇率等数据.

3 结果与分析

3.1 测序数据产出统计

如下表 1 所示, 经过测序质量控制, 共得到 84.71 GbCleanData, 基因组 GC 含量为 49.45%, 各样品 Q30 碱基百分比均不小于 95.61%. 将 CleanReads 与参考基因组进行序列比对, 获取位置信息以及测序样品特有的序列特征信息, 对比结果表明: 各样品的 Reads 与参考基因组的比对效率

在 64.49%至 85.52%之间, 共比对到 11 576 个转录本, 测序结果的组装质量达到要求, 质量较好, 可以用于下一步的分析.

表 1 测序数据结果统计
Tab. 1 Sequencing data statistics

各处理样品 Samples	总数 Clean reads	总碱基对 Clean bases	GC 含量 GC Content	Q30 值 %≥Q30
CK	23 231 947	6 939 740 413	49.73%	95.88%
4d	23 760 181	7 097 276 255	49.70%	95.75%
6d	22 608 402	6 753 556 974	48.69%	95.86%
8d	24 855 140	7 435 877 028	49.68%	95.61%

3.2 差异表达基因的筛选与分析

以对照 0 h 基因的表达为基准, 分析采用 4 d、6 d、8 d 降温刺激的基因差异表达情况, 差异表达基因满足 Fold-change ≥ 2 、 $P\leq 0.05$. 从图 1 可以看出样本在不同降温刺激后与对照相比差异表达基因数明显增加, 图中的每一个点表示一个基因, 0vs4d 有 1102 个差异表达基因, 其中显著上调的基因个数为 664, 下调为 438; 0vs6d 有 1481 个差异表达基因, 其中显著上调的基因个数为 870, 下调为 611; 0vs8d 有 1386 个差异表达基因, 其中显著上调的基因个数为 757, 下调为 629; 同一时间段上调和下调基因数相差最大的是 6d, 有 259 个差异基因. 维恩图(图 2)显示不同降温刺激下共有 820 个共同差异基因, 也产生特有的差异表达基因, 其中 0vs6d 形成的差异表达基因数最多, 为 328.

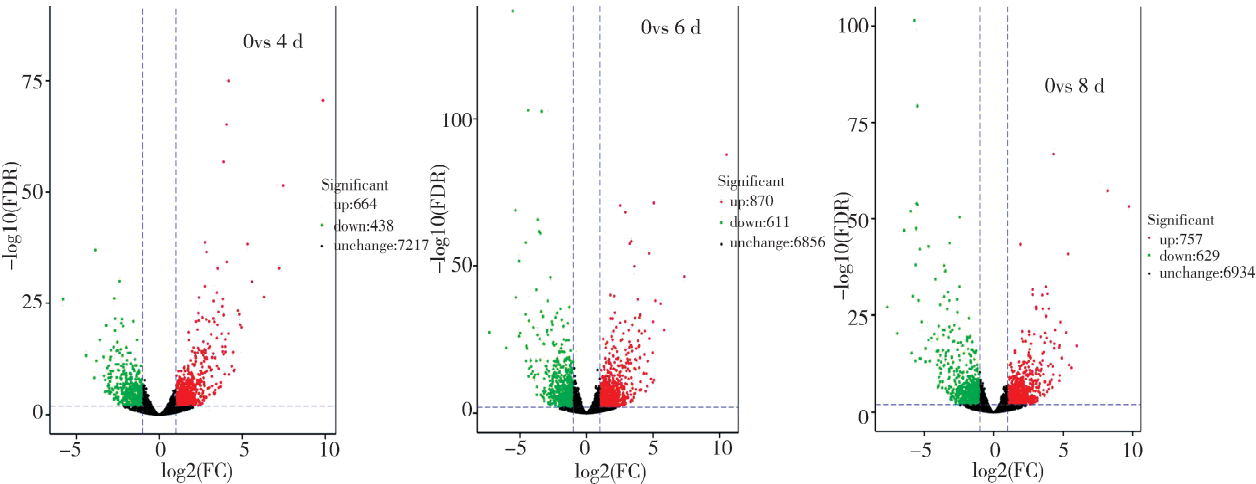


图 1 温刺处理与对照间基因差异表达分析火山图

横坐标表示在两样品中表达量差异倍数的对数值; 纵坐标表示基因表达量变化的统计学显著性的负对数值. 表明差异表中绿色的点代表下调差异表达基因, 红色的点代表上调差异表达基因, 黑色的点代表非差异表达基因

Fig. 1 Volcanic map of gene differential expression analysis between the control group and the twickle treatment

The abscissa denotes the logarithm of the multiple of expression difference between the two samples. The vertical axis represents the negative pair of statistically significant changes in gene expression. The green dots represent down-regulated genes, the red dots represent up-regulated genes, and the black dots represent non-differentially expressed genes

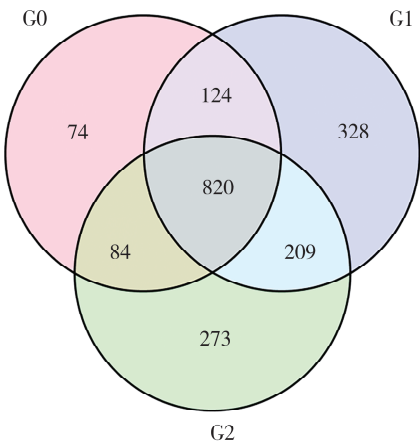


图 2 差异表达基因集维恩图

G0、G1、G2 分别表示 4 d、6 d、8 d 与对照间差异表达基因数
Fig. 2 Venn diagram of differentially expressed gene sets
G0, G1 and G2 represent the number of differentially expressed genes between the treatment and the control at 4 d, 6 d and 8 d, respectively

3.3 GO 功能的聚类分析

我们对不同降温刺激下差异表达基因进行 GO 功能注释,统计其注释分类结果(图 3),发现生物学过程(biological process)、细胞组分(cellular component)、分子功能(molecular function)三大功能分类分别包含了 14、11 和 12 个功能分类.其中差异表达基因在细胞组分和生物学过程中分布较多.在细胞组分分组中的差异表达基因主要分布

在薄膜(membrane)及组分(membrane)和细胞(cell)及组分,所占比例分别为 45. 6%和 30. 93%,拟核(nucleoid)含量最低,仅有 6 个基因下调表达.在分子功能分组中的差异基因主要分布在催化活性(catalytic activity)和结合(binding),所占比例分别为 52. 57%和 35. 62%,营养库活性类(nutrient reservoir activity)中包含的差异表达基因数最少,只有 3 个.在生物学过程分组中,代谢过程(metabolic process)、单生物过程(single-organism process)及细胞过程(cellular process)所占比例最高,分别为 34. 76%、23. 4%及 19. 9%,且上调表达基因数在 2/3 以上.其中,0vs6d 比较组除了在代谢、细胞过程中差异基因占优外,在胁迫响应(response to stimulus)、子实体分化(reproduction)和发育过程(developmental process)等条目下的差异基因明显并基本为上调表达,说明 6 d 降温刺激下更加有利于提高双孢蘑菇发育过程中的适应能力,对生长发育起到促进作用.

根据差异表达基因显著性富集结果显示,在生物学过程分组中,氨基酸代谢过程是不同降温刺激下共有显著富集的类型,0vs6d 比较组在糖酵解类型中也显著富集,说明 6 d 刺激下的差异表达基因参与的细胞内进行各种氨基酸和糖代谢更明显.

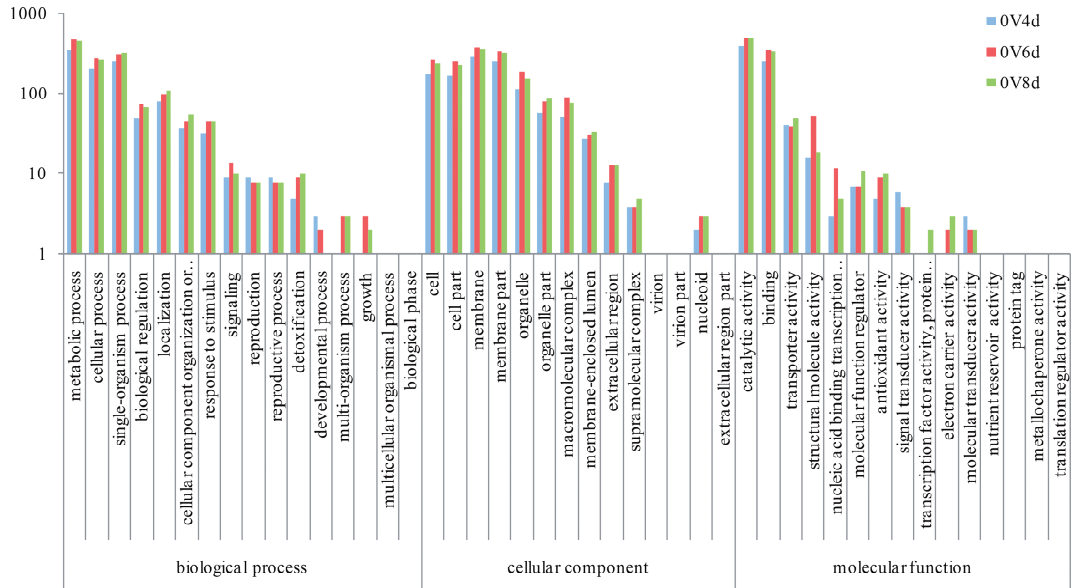


图 3 不同处理组差异表达基因 GO 分类柱状图

Fig. 3 Histogram of GO classification of differentially expressed genes in different treatment groups

3.4 pathway 富集分析

对 3 个对照组的差异表达基因进行 KEGG 功能注释,通过 Pathway 富集分析发现:差异表达基因富集到 20 个通路类别,主要参与代谢途径和信

号途径(图 4),选取差异基因富集数目较多的 Pathway 进行分类整理分析得到主要代谢通路是氨基酸代谢(48 个差异基因)和碳水化合物代谢(56 个差异基因).4 d 有 186 个差异表达基因注释

到 92 个分类代谢途径中,有 113 个差异表达基因是上调表达的; 6 d 有 259 个差异表达基因注释到 97 个分类代谢途径中,有 169 个差异表达基因是上调表达的; 8 d 有 241 个差异表达基因注释到 96 个分类代谢途径中,有 138 个差异表达基因是上调表达的. 进一步对 3 个对照组进行分析发现:6 d 和 8 d 相关差异基因定位到了酯代谢、脂类代谢、萜类化合物合成分类上,并且呈上调表达,而 4 d 没有,其中 6 d 在多糖生物合成代谢的糖胺聚糖降解、脂类代谢的类固醇合成及亚麻酸代谢分类中都有特有的差异基因,并且呈上调表达.

3 个样本间的差异表达基因进行 KEGG 通路富集分析结果表明:差异表达基因主要富集在氨基酸和抗生素生物合成通路上. 其中 6 d 出现了差异表达基因在糖酵解和核糖体生物合成通路富集,其中 6 d 比较组有 16 个基因富集到糖酵解途径,并且 15 个呈上调表达,由图 6 所示,糖酵解途径将葡萄糖和糖原降解为丙酮酸并伴随一系列反应,涉及基因作用于葡萄糖、果糖、甘油醛及磷酸烯醇丙酮酸等代谢产物,可能会参与到淀粉和蔗糖代谢、磷酸戊糖、丙酮酸代谢等途径.

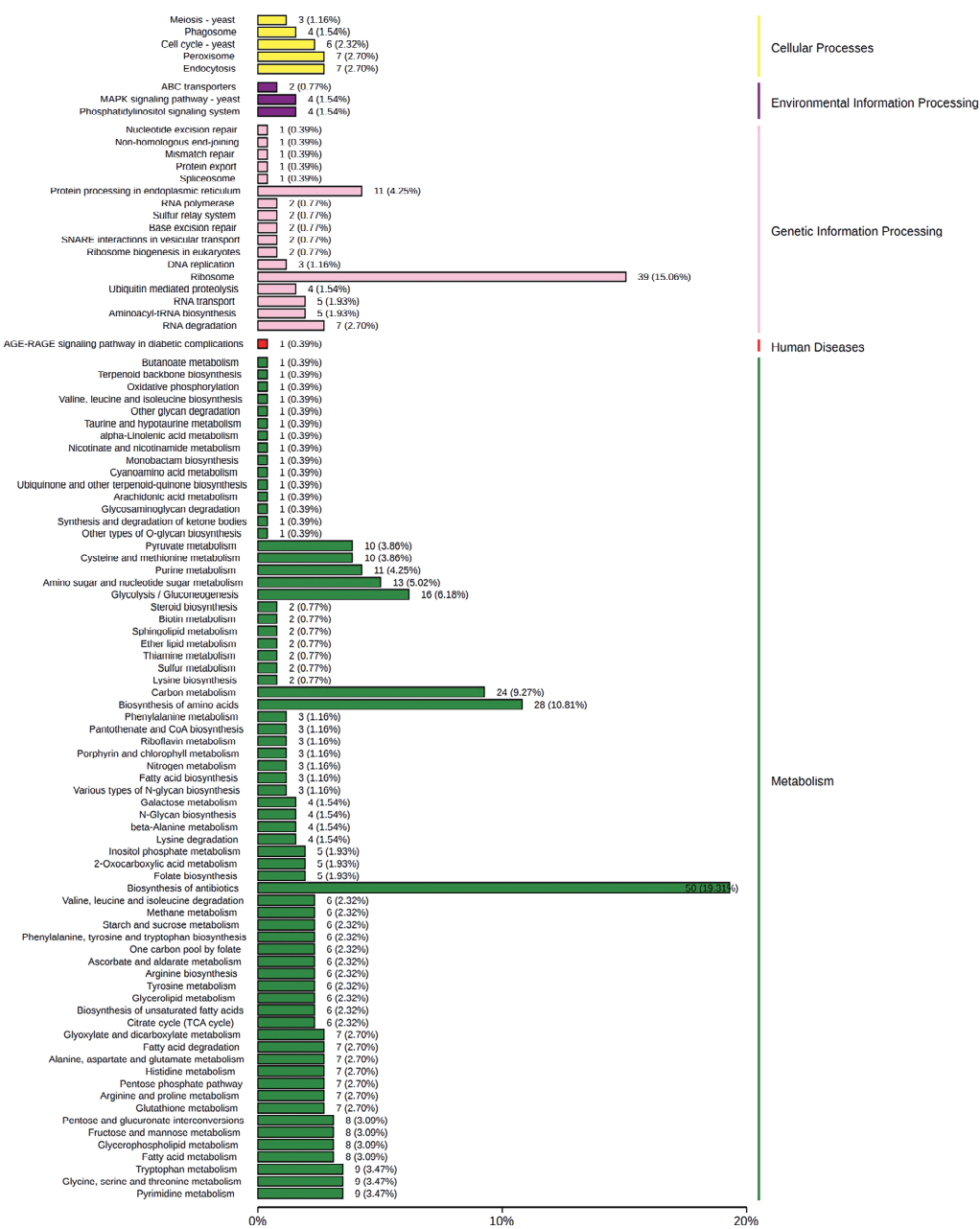


图 4 6 d 差异表达基因 KEGG 分类图
Fig. 4 KEGG classification of differentially expressed genes at 6 d

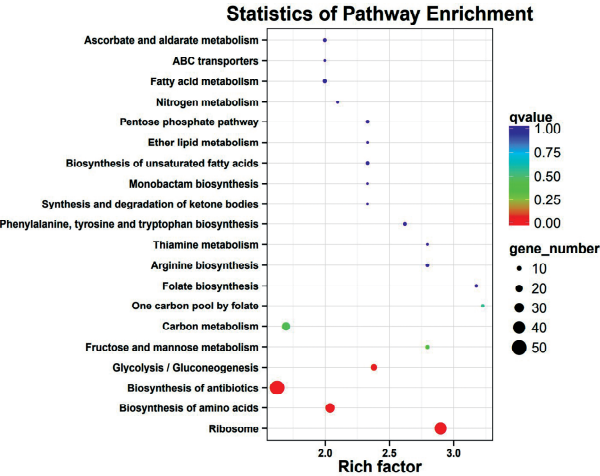


图 5 6 d 差异表达基因 KEGG 通路富集图
Fig. 5 Enrichment diagram of 6 d differentially expressed genes in KEGG pathway

3.5 长势、产量及商品性分析

对不同降温刺激下的双孢蘑菇长势、产量及密度等进行了观察记录. 如图 7 所示, 结果表明: 降温 4 d 的双孢蘑菇长速最快, 从降温开始第 7 d 陆续出现原基, 第 12 d 进入采收期; 降温 6 d 双孢蘑菇从降温开始第 9 d 陆续出现原基, 第 13 d 进入采收期. 降温 8 d 双孢蘑菇长速明显较慢, 从降温开始第 10 d 陆续出现原基, 第 15 d 进入采收期.

双孢蘑菇产量情况如下表 2 所示, 不同降温刺激下的双孢蘑菇均为第一潮产量较高, 占总产的 50% 左右, 二、三潮菇产量递减的趋势. 4 d 和 6 d 降温刺激产量为 26.39 kg/m² 和 26.23 kg/m², 4 d 产量略高, 但无显著性差异, 8 d 和对照的产量较低, 分别为 21.79 kg/m² 和 19.47 kg/m².

试验以单位面积的出菇个数为统计依据, 对出菇密度进行了观测. 4 个处理下的出菇密度分别为 602 个/m²、627 个/m²、575 个/m² 和 483 个/m², 出菇密度最高值为 4 d, 6 d 低于 4 d, 8 d 出菇密度最低, 但是从商品菇角度来观测, 6 d 刺激下产出商品菇最多, 其次是 8 d, 次品菇发生率最多是 4 d 和对照.

表 2 不同降温刺激下双孢蘑菇产量情况
Tab. 2 Yield of *Agaricus bisporus* under different cold stimulation

降温 时间/d	双孢蘑菇产量/(kg/m ²)												平均产量	差异
	第一潮			第二潮			第三潮			前三潮产量				
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
4	13.30	13.43	12.63	8.70	6.30	8.15	5.08	5.81	5.78	27.08	25.54	26.56	26.39	Aa
6	13.35	12.85	13.78	9.75	8.60	8.30	4.25	4.10	3.70	27.35	25.55	25.78	26.23	Aa
8	12.20	11.90	9.25	6.20	7.48	6.70	4.27	3.50	3.88	22.67	22.88	19.83	21.79	Bb
0	10.19	10.48	9.90	5.74	6.23	6.10	3.78	2.95	3.04	19.71	19.66	19.04	19.47	Bc

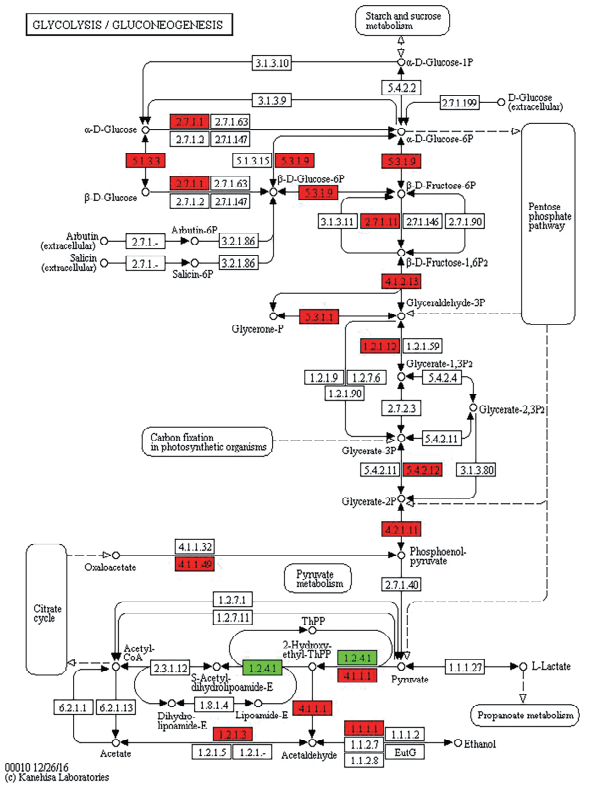


图 6 6 d 富集到糖酵解途径
红色框代表上调表达基因, 绿色框代表下调表达基因
Fig. 6 Enriched in glycolysis pathway at 6 d
the red box represents up-regulated genes, and the green box represents down-regulated genes

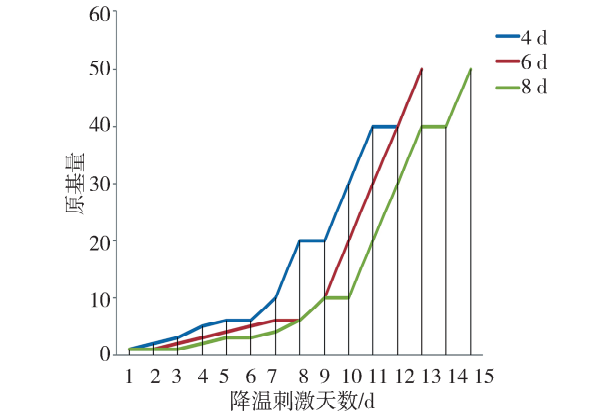


图 7 双孢蘑菇生长趋势
Fig. 7 Growth trend of *Agaricus bisporus*

表 3 不同降温刺激下出菇密度

Tab. 3 Mushroom emergence density under different cold stimulation

降温时间 /d	出菇密度/(个/m ²)		
	商品菇	次品菇	总量
0	256	346	602
4	453	174	627
6	486	89	575
8	405	78	483

注:表中数据以第一潮菇产量计算

4 讨 论

近年来转录组测序技术解决了双孢蘑菇分子理论基础研究薄弱,遗传背景了解不深入的问题,从整体水平上研究了双孢蘑菇不同生长期基因功能及结构^[3],揭示了特定生物学过程中的分子机理.但催蕾期是双孢蘑菇菌丝营养生长转向生殖生长,菌丝体扭结形成原基乃至子实体分化发育的启动期,是一个复杂的生长过程.其中低温处理是催化原基形成的关键时期,该过程受一系列基因协调的作用.不同温度刺激将影响其生长机理,其中涉及到基础代谢、细胞伸长、细胞结构的变化、信号转导和胁迫响应.所以对催蕾期不同环境控制下差异表达基因的研究有助于更深入了解菌丝体到原基发育的分子机理,对于双孢蘑菇后期子实体发育和成熟有着重要的作用.本研究选用催蕾期中的不同温刺强度处理的菌丝体进行转录组测序,通过了解差异基因的种类和数量、基因的功能、GO 分类以及代谢过程等,有助于我们更深入研究双孢蘑菇原基形成机制,为工厂化栽培双孢蘑菇标准环境参数制定提供理论依据.

本研究发现,利用 RNA-Seq 转录组测序结合生物信息学对 4 d、6 d、8 d 温刺强度处理的双孢蘑菇菌丝体进行分析,筛选出不同温刺处理下差异表达基因.其中 6 d 温刺强度与对照有 1481 个差异基因,较 8 d 和 4 d 分别高出 6.9%和 34%,并且同一时间段上调和下调基因数相差最大的是 6 d,有 259 个差异基因.

GO 数据库适用于各个物种,包含生物学过程(Biological Process),分子功能(Molecular Function)和细胞组分(Cellular Component)三个主要分支.将所有差异基因进行 GO 功能聚类分析发现差异基因在细胞组分和生物学过程中分布较多.重

要的是发现 6 d 除了在代谢、细胞过程中差异基因占优外,在胁迫响应、子实体分化和发育过程等条目下的差异基因明显并基本为上调表达,上调转录本大多是与细胞成长发育相关的转录本,上调表达大多都是促进作用^[9].而 4 d 和 8 d 并没有出现这类差异基因,可以推断 6 d 处理下的双孢蘑菇菌丝体在应对环境变换时有更好的适应能力,对生长发育起到促进作用.同时,根据差异表达基因显著性富集结果显示,在生物学过程分组中,氨基酸代谢过程是不同降温刺激下共有显著富集的类型,6 d 在糖酵解类型中也显著富集,说明 6 d 刺激下的差异表达基因参与的细胞内进行各种氨基酸和糖代谢更明显.

在生物体内,不同的基因产物相互协调来行使生物学功能,对差异表达基因的通路(Pathway)注释分析有助于进一步解读基因的功能.KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)是系统分析基因功能、基因组信息数据库,它有助于研究者把基因及表达信息作为一个整体网络进行研究.作为有关 Pathway 的主要公共数据库^[10],KEGG 提供的是整合代谢途径(pathway)查询,包括碳水化合物、核苷、氨基酸等的代谢及有机物的生物降解,不仅提供了所有可能的代谢途径,而且对催化各步反应的酶进行了全面的注解,包含有氨基酸序列、PDB 库的链接等等,是进行生物体内代谢分析、代谢网络研究的强有力工具.本研究通过 Pathway 富集分析发现:差异表达基因富集到通路类别,主要参与代谢途径和信号途径,选取差异基因富集数目较多的 Pathway 进行分类整理分析得到主要代谢通路是氨基酸代谢和碳水化合物代谢.其中 6 d 和 8 d 相关差异基因定位到丁酯代谢、脂类代谢、萜类化合物合成分类上,并且呈上调表达,而 4 d 没有,其中 6 d 在多糖生物合成代谢的糖胺聚糖降解、脂类代谢的类固醇合成及亚麻酸代谢分类中都有特有的差异基因,并且呈上调表达.而形成脂肪类化合物能为生物体提供氮源,并在细胞分化、细胞膜稳定性的维持及职务的感知及生理应急方面起着重要作用^[11].KEGG 通路富集分析结果表明:差异表达基因主要富集在氨基酸和抗生素生物合成通路上.其中 6 d 出现了差异表达基因在糖酵解和核糖体生物合成通路富集,而 4 d 和 8 d 未出现,说明在 6 d 的降温强度下双孢蘑菇有更显著的应答反应.根据 mRNA 差异显示技术

研究菌丝体及子实体差异表达基因^[12]的研究结果表明,菌丝期的糖酵解可能涉及菌丝发育成原基过程中的某些活跃的生理生化活动,如能量代谢等.参与的糖酵解途径将葡萄糖和糖原降解为丙酮酸并伴随一系列反应,涉及基因作用于葡萄糖、果糖、甘油醛及磷酸烯醇丙酮酸等代谢产物,可能会参与到淀粉和蔗糖代谢、磷酸戊糖、丙酮酸代谢等途径当中.

鲜菇质量和产量是双孢蘑菇生产水平的重要体现,也是催蕾技术是否成熟的评价标准.研究通过记录不同降温刺激下双孢蘑菇长势、产量、密度及商品性发现 4 d、6 d 降温刺激下蘑菇产量较高,4 d 出菇早,密度高,但分层不明显导致菇型受到影响,相比之下 6 d 降温刺激在保证产量的同时也提升了产品的品质.

5 结 论

本研究利用转录组测序技术对工厂化双孢蘑菇催蕾期降温阶段不同降温刺激下菌丝体材料进行测序,通过生物信息学等方法对该阶段双孢蘑菇菌丝体多种代谢途径进行分析,从不同角度对重要的差异基因进行了注释和讨论,初步明确了 3 种降温刺激下基因表达变化情况、差异表达基因的数量、GO 分类及代谢过程、出菇产量及品质等.研究表明 6 d 降温刺激下的 GO 功能聚类分析、差异表达基因的 Pathway 富集分析等较其他处理具有明显不同,说明采用 6 d 的降温刺激会让菌丝体有更好的适应能力,对于原基形成和子实体生长发育起到促进作用,同时更加有利于蘑菇产量和品质的形成.此结果为工厂化双孢蘑菇催蕾期环境调控提供了科学理论,为进一步挖掘双孢蘑菇原基形成和子实体生长的关键基因奠定基础.

参考文献:

- [1] 平慧芳. 双孢蘑菇优质安全栽培技术[J]. 食用菌, 2018, 40: 57.
- [2] Mark D. Mushroom signals [M]. Netherlands: Roodbont Publishers B V, 2018.
- [3] 吴小梅, 张昕, 李南羿. 双孢蘑菇子实体不同发育时期的转录组分析[J]. 菌物学报, 2017, 36: 193.
- [4] 解凡, 赵丽丽, 叶丽云, 等. 秀珍菇冷刺激时期的转录组分析[A]//中国菌物学会 2018 年学术年会论文汇编. 泰安:中国菌物学会, 2018: 1.
- [5] 施肖堃, 蔡志欣, 郭仲杰, 等. 双孢蘑菇 As2796 子实体发育转录组测序分析[J]. 福建农业学报, 2018, 33: 28.
- [6] 袁卫东, 陆娜, 陈青, 等. 灰树花子实体转录组测序和分析[J]. 复旦学报:自然科学版, 2015, 54: 673.
- [7] Young M D, Wakefield M J, Smyth G K, *et al.* Gene ontology analysis for RNA-seq: accounting for selection bias [J]. Genome Biol, 2010, 11: 14.
- [8] Mao X, Cai T, Olyarchuk J G, *et al.* Automated genome annotation and pathway identification . using the KEGG Orthology (KO) as a controlled vocabulary [J]. Bioinformatics, 2005, 21: 3787.
- [9] 王海英. 草菇不同发育时期菌柄基因表达谱差异初步分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2011.
- [10] Kanehisa M, Araki M, Goto S, *et al.* KEGG for linking genomes to life and the environment [J]. Nucleic Acids Res, 2008, 36: 480.
- [11] 姚响文, 周密, 曹颖瑛, 等. 多胺在微生物中的研究进展[J]. 中国真菌学杂志, 2014, 9: 114.
- [12] 王年久. mRNA 差异显示技术研究糙皮侧耳菌丝体及子实体差异表达基因[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.

引用本文格式:

中 文: 陆娜, 宋吉玲, 闫静, 等. 工厂化双孢蘑菇不同降温刺激后的转录组分析[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2022, 59: 026002.

英 文: Lu N, Song J L, Yan J, *et al.* Transcriptome analysis of industrial *Agaricus bisporus* after different cooling stimuli at pinhead out-grow stage [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2022, 59: 026002.