

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202303019

罗阳兰, 王灿琴, 胡秀月, 等, 2024. 基于 UHPLC-MS/MS 技术的三种不同基质栽培肺形侧耳的代谢组学研究 [J]. 广西植物, 44(3): 586–599.

LUO YL, WANG CQ, HU XY, et al., 2024. UHPLC-MS/MS-based metabolomic characterization and contrastive analysis in *Pleurotus pulmonarius* cultivated with three different substrates [J]. *Guihaia*, 44(3): 586–599.

基于 UHPLC-MS/MS 技术的三种不同基质栽培肺形侧耳的代谢组学研究

罗阳兰¹, 王灿琴^{1*}, 胡秀月², 蓝桃菊¹, 韦仕岩¹, 韦娇君¹, 吴圣进¹

(1. 广西壮族自治区农业科学院微生物研究所, 南宁 530007; 2. 田林县经济作物试验站, 广西 百色 533300)

摘 要: 桉树因其优异的特性在我国拥有广大的种植面积, 在其栽培和生产加工过程会产生大量的桉树皮和桉木屑等副产物, 其剩余物资源较丰富。目前已有利用桉木屑栽培食用菌的报道, 为了解桉树皮和桉木屑与杂木屑栽培的肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 代谢物的差异, 该研究采用超高效液相色谱-串联质谱 (Ultra-High Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry, UHPLC-MS/MS) 技术, 结合正交偏最小二乘法-判别分析法 (Orthogonal Projections to Latent Structures Discriminant Analysis, OPLS-DA) 对不同栽培基质条件下肺形侧耳子实体的代谢物进行了非靶向代谢组学研究。以变量权重值 (Value Importance in Projection, VIP) > 1 结合 *T* 检验 $P < 0.05$ 为标准进行筛选。结果表明: (1) 处理组 B (桉木屑) 与对照组 A (杂木屑) 之间有 45 种差异代谢产物和 8 种差异代谢物通路, 处理组 C (桉树皮) 与对照组 A 之间有 53 种差异代谢产物和 15 种差异代谢物通路, 处理组 B 与处理组 C 之间有 39 种差异代谢产物和 5 种差异代谢物通路。(2) 根据 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 代谢通路富集分析处理组 C 和对照组 A 得到 4 条显著的代谢通路, 分别为精氨酸生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢、泛酸和辅酶 A 生物合成和丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 处理组 B 和处理组 C 得到 1 条显著的代谢通路为组氨酸代谢, 而处理组 B 和对照组 A 中无显著性代谢通路 ($P > 0.05$)。综上所述, 利用桉树皮和桉木屑作为肺形侧耳的主要栽培基质 (尤其是桉木屑), 可以降本增效和实现资源再利用。该研究结果为桉树加工副产物应用于食用菌栽培提供了参考。

关键词: 桉树加工副产物, 肺形侧耳, 栽培基质, 非靶向代谢组学, 代谢通路

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2024)03-0586-14

UHPLC-MS/MS-based metabolomic characterization and contrastive analysis in *Pleurotus pulmonarius* cultivated with three different substrates

LUO Yanglan¹, WANG Canqin^{1*}, HU Xiuyue², LAN Taoju¹,
WEI Shiyan¹, WEI Jiaojun¹, WU Shengjin¹

收稿日期: 2023-08-12 接受日期: 2023-12-21

基金项目: 广西科技重大专项 (AB21196069); 创新联盟专项-科技先锋队“强农富民”“六个一”专项行动 (桂农科盟 202308); 广西田林特色作物试验站建设项目 (桂 TS2022017)。

第一作者: 罗阳兰 (1993—), 硕士, 助理研究员, 研究方向为食用菌资源保育和利用, (E-mail) 595059345@qq.com。

* 通信作者: 王灿琴, 硕士, 研究员, 研究方向为食用菌遗传育种, (E-mail) 1440073797@qq.com。

(1. Microbiology Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China;

2. Tianlin County Economic Crop Test Station, Baise 533300, Guangxi, China)

Abstract: Due to excellent characteristics, there is a vast planting area of eucalyptus in China. Its cultivation, production and processing processes will produce a large number of eucalyptus bark and sawdust, of which surplus resources are rich. It has been reported to cultivate edible fungi using eucalyptus sawdust. To analyze the difference of metabolites and their pathways in *Pleurotus pulmonarius* cultivated with three different substrates among eucalyptus bark, eucalyptus sawdust and miscellaneous sawdust. Based on the Ultra-High Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry (UHPLC-MS) technique, an untargeted metabolomic study was performed on the differences metabolites of fruit bodies of *Pleurotus pulmonarius* under different cultivation substrates by and Orthogonal Projections to Latent Structures Discriminant Analysis (OPLS-DA). The results were as follows: (1) The screening results based on Value Importance in Projection (VIP)>1 and T test $P<0.05$ showed that there were 45 differential metabolites and eight differential metabolite pathways between treatment Group B (eucalyptus sawdust) and control Group A (miscellaneous sawdust), 53 differential metabolites and 15 differential metabolite pathways between treatment Group C (eucalyptus sawdust) and control Group A, and 39 differential metabolites and five differential metabolite pathways between treatments Group B and Group C, respectively. (2) According to the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment metabolic pathway, four significant metabolic pathways were obtained between treatment Group C and control Group A, including arginine biosynthesis, arginine and proline metabolism, pantothenate and CoA biosynthesis, alanine, aspartate and glutamate metabolism, and treatment groups B and C obtained one significant metabolic pathway which was Histidine metabolism, while there was no significant metabolic pathway between treatment Group B and control Group A ($P>0.05$). In conclusion, using the by-products of eucalyptus processing (eucalyptus bark and eucalyptus sawdust) as the main cultivation substrates of *P. pulmonarius*, especially eucalyptus sawdust, can realize resource recycling, reduce production costs and improve economic benefits. This study provides a theoretical basis for the application of eucalyptus processing by-products in the cultivation of edible fungi.

Key words: eucalyptus processing by-products, *Pleurotus pulmonarius*, cultivation substrates, untargeted metabolomics, metabolic pathway

广西壮族自治区桉树人工林种植面积超过 133 333.33 hm^2 (唐健等, 2021), 居全国首位 (姜仲翔等, 2021), 年产桉树木材 2 100 万平方千米以上 (黎学文等, 2020), 其中桉树皮约为 250 万吨, 桉木屑及边材约为 300 万吨 (罗阳兰等, 2023)。长期以来, 仅有约 3/4 的桉树加工副产物用于制浆造纸原料、直接和间接燃料 (刘曼红, 2010), 相当一部分直接填埋或焚烧 (黄保成等, 2023)。近年来, 已有相关研究证明利用桉树皮 (叶建强等, 2021) 或桉木屑 (卢中强等, 2021) 等桉树加工副产物栽培的食用菌在食用菌生长适应性 (王灿琴等, 2018)、菌丝生长速度 (袁滨等, 2020) 和菌包污染率降低 (刘春丽等, 2021) 等方面均有一定的促进作用。

肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 隶属于真菌门 (Eumycota) 担子菌纲 (Basidiomycetes) 伞菌目 (Agaricales) 侧耳科 (Pleurotaceae) 侧耳属

(*Pleurotus*), 是一类富含多种蛋白质、氨基酸和多糖的珍稀食用菌 (段丹等, 2021), 具有抗衰老、抗肿瘤、增强免疫力等功能 (戴照琪等, 2022)。近年来, 在福建、广东、广西等地栽培面积较大 (高励勋等, 2022), 现有的代料栽培基质大多使用杂木屑 (方志荣等, 2021)、甘蔗渣和棉籽壳 (王南南等, 2022), 但原料成本持续走高已成为限制产业发展的问题, 寻求低廉的替代栽培基质成为研究热点 (康超等, 2016), Zhang 等 (2019a, b) 用山核桃壳及油茶壳代替棉籽壳栽培, 提高肺形侧耳的产量、生物学效率以及粗纤维、灰分、氨基酸等营养物质的含量。隆海玉等 (2019) 和刘明等 (2016) 利用草菇菌渣和金针菇菌渣栽培肺形侧耳, 使其生物学效率分别达到 20.3% 和 65.03%, 提高了生产效益。目前, 关于肺形侧耳的研究主要集中在栽培技术优化、优良菌种选育、品质分析检测、药理功能探究、采后贮藏保鲜和废菌渣再利用等方面 (刘凌云等, 2020), 基于代

谢组学技术对不同栽培基质在栽培过程中子实体代谢物和代谢途径的研究少有报道。

目前,代谢组学在食用菌中应用尚处于起步阶段,李康乐(2012)利用 HPLC-MS 的代谢组方法对姬松茸、香菇、杏鲍菇、灰树花、平菇、金针菇等几种不同的食用菌及其他真菌的代谢组进行差异比较分析,发现不同菌类的特有化合物;刘芹等(2021)基于代谢组学研究了平菇栽培用培养料发酵过程中代谢物的差异和变化;杨建等(2023)基于 UPLC-MS/MS 分析了羊肚菌子实体酚酸类代谢物差异,这些研究为食用菌代谢组分分析提供了一定的参考价值。

本研究基于 UHPLC-MS/MS 技术利用非靶向代谢组学对桉树加工主要副产物(桉木屑和桉树皮)与杂木屑等对照基质栽培的肺形侧耳的代谢产物进行分析,拟探讨以下科学问题:(1)桉树皮和桉木屑栽培基质和杂木屑栽培基质间差异显著的代谢产物有哪些;(2)分析差异显著的代谢通路有什么;(3)对比分析桉树皮和桉木屑栽培基质哪个基质更有利于栽培应用。以期在食用菌栽培应用方面提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料

供试肺形侧耳(*Pleurotus pulmonarius*)菌株 S1 由广西农业科学院微生物研究所保存。

棉籽壳(中国乌鲁木齐)购自中棉集团新疆农业有限公司;杂木屑(以枫木、椎木等木屑为主)、桉木屑和桉树皮(树种为尾叶桉)(中国南宁)均购自广西木立方木业有限公司;麦麸、桑枝屑、石灰粉、石膏粉、过磷酸钙(中国柳州)均购自广西融水县永富生态农业有限公司。

1.2 仪器和试剂

Vanquish 超高压液相色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Q Exactive-HFX 质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);5430R 型低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司);Wonbio-96c 型多样品冷冻研磨仪(上海万柏生物科技有限公司);LNG-T88 型台式快速离心浓缩干燥器(太仓市华美生化仪器厂);SBL-10DT 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);BSM-220.4 型分析天平(上海卓精电子科技有限公司);NewClassic MF

MS105DU 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

色谱纯的乙酸、甲醇、乙腈、异丙醇、甲酸(Fisher,中国南宁)。

1.3 培养基

对照组为 A 组,B 组和 C 组为处理组,A、B、C 组出菇试验培养基配方分别添加 50%的杂木屑、桉木屑和桉树皮,其余基料分别为桑枝屑 20%、棉籽壳 15%、麦麸 12%、石灰 2%、石膏 0.5%、过磷酸钙 0.5%,含水量 65%。

1.4 方法

1.4.1 样本制备 每组出菇试验培养基配方进行 3 个处理(每个处理 5 次重复),选用装袋的聚乙烯筒料袋规格为 22.000 cm × 43.000 cm × 0.003 cm,每袋湿料(含水量为 60%)分装 2.5 kg 并进行接种、发菌和出菇管理,后续试验处理取鲜子实体样进行。

1.4.2 样品前处理 将解冻后的样品称取 50~100 mg,加入 1 mL 水:乙腈:异丙醇(1:1:1, V/V),涡旋 60 s 后低温超声 30 min,12 000 g、4 ℃ 离心 10 min 取上清液,-20 ℃ 放置 1 h 沉淀蛋白,12 000 g、4 ℃ 离心 10 min 取上清液真空干燥复溶于 200 μL 50%ACN 中涡旋,14 000 g、4 ℃ 离心 15 min 后取上清液检测。

1.4.3 UHPLC-MS 检测 色谱条件:整个分析过程中样品置于 4 ℃ 自动进样器中,色谱柱为 Waters HSS T3 (100 mm × 2.1 mm,1.8 μm);流动相(A 相为 0.1%甲酸-水溶液,B 相为 0.1%甲酸-乙腈)。洗脱梯度:0.0~1.0 min A/B (100:0, V/V),1.0~9.0 min A/B (5:95, V/V),9~13 min A/B (5:95, V/V),13.1~17.0 min A/B (100:0, V/V);流速 0.3 mL · min⁻¹;柱温 40 ℃;进样量 2 μL。采用随机顺序进行样本的连续分析同时检测样本队列中需插入 QC 样品,以避免仪器检测信号波动的影响并监测系统的稳定性和数据的可靠性。

质谱条件:采用美国 Thermo 公司 Q Exactive HFX 高分辨质谱系统进行一级、二级谱图的采集。电喷雾离子源(electrospray ionization,ESI)条件如下:离子喷雾电压 3 000 V/-2 800 V;温度 350 ℃;离子传输管温度 320 ℃;鞘气 40 arb;辅助气 10 arb。扫描方式为正离子/负离子;扫描模式为 Full-ms-ddMS2 模式。一级扫描范围(scan *m/z* range):70~1 050 Da,二级扫描 200~2 000,一级分辨率 70 000,二级分辨率 17 500。

1.4.4 质控 质控样品(quality control, QC)是一个由所有检测样品混合而成的样品,用于评估上机过程中分析系统的稳定性和实验结果的可靠性, QC 样本与正式样本进行相同处理。

1.4.5 数据处理 用代谢组学处理软件 Progenesis QI (Waters Corporation, Milford, USA) 对原始数据进行基线过滤、峰识别、积分、保留时间校正、峰对齐,最终得到一个保留时间、质荷比和峰强度的数据矩阵,数据库主要为 HMDB 和 Metlin 等公共数据库以及自建的数据库。数据预处理:(1)仅保留任一组样品中非零值 80% 以上的变量;(2)总峰归一化,删除 QC 样本相对标准偏差(RSD) $\geq 30\%$ 的变量;(3)将数据进行 $\log_{10}$ 转化得到用于后续分析的数据矩阵。

多维统计分析采用 PCA 主成分分析法及 OPLS-DA 分析法进行。通过变量投影重要度(Variable Important for the Projection, VIP)和 T 检验(T test)的 P 值来确定差异代谢物(其中 $VIP > 1$, $P < 0.05$ 的代谢物为显著差异代谢物),同时 $Fold\ change \geq 1.0$ 为上调代谢物, $Fold\ change < 1.0$ 为下调代谢物($Fold\ change$ 为代谢物在两组间的差异倍数),通过 KEGG 数据库和 R 语言分别进行的代谢通路注释和富集分析,并通过 Fisher 精确检验获得受到显著影响的代谢通路。

2 结果与分析

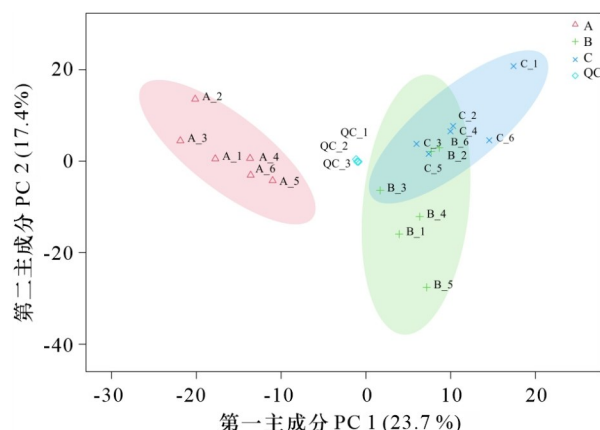
2.1 整体样本 PCA 分析

PCA 得分图在主成分 PC1、PC2 上的坐标点距离代表了不同样本间聚散程度,如图 1 显示 QC 聚合度高,说明 QC 重复性良好,分析系统稳定。

2.2 OPLS-DA 分析

采用 OPLS-DA 分析法进一步提高模型解析能力及有效性,经 7 次循环交互验证得到 OPLS-DA 模型。各组样本 OPLS-DA 得分图(图 2)表明各组都位于置信区间内。同时,由表 1 中 R^2X 、 R^2Y 和 Q^2 参数值可知,各组 Q^2 均大于 0.5,表明该模型稳定可靠。

通过随机改变分类变量 Y 的排列顺序进行置换检验以防止模型过拟合。由图 3 可知,在各组模型验证中,置换检验图左边所有 Q^2 值都低于右边原始点,表明模型没有过拟合,可用于后续的差异成分分析。



A-C. 不同培养基配方。A. 对照组; B、C. 处理组。下同。
A-C. Different culture medium formulations. A. Control group;
B, C. Treatment groups. The same below.

图 1 PCA 得分图

Fig. 1 PCA score plot

2.3 样本中差异代谢物的确定

由表 2 可知,与对照组 A 相比,处理组 B 共筛选出 45 种差异代谢产物,包括 13 个氨基酸、12 个有机酸、3 个维生素、3 个醛类、2 个蛋白酶类、2 个生物碱、2 个胆碱类、2 个核苷酸类、1 个糖类、1 个酮类、1 个酯类、1 个核苷类、1 个有机酸酯、1 个糖内酯,其中 28 种化合物上调。

与对照组 A 相比,处理组 C 共筛选出 53 种差异代谢产物,包括 18 个有机酸、12 个氨基酸、6 个糖类、3 个生物碱、3 个维生素、2 个磷脂类、2 个糖苷类、1 个糖内酯、1 个醇类、1 个核苷酸类、1 个蛋白酶类、1 个核苷类、1 个酮类、1 个醛类,其中 30 种化合物上调。

处理组 B 和 C 相比,共筛选出 39 中差异代谢产物,包括 9 个有机酸、7 个氨基酸、6 个糖类、4 个维生素、3 个糖苷类、2 个醛类、2 个胆碱类、2 个酯类、1 个生物碱、1 个蛋白酶类、1 个糖内酯、1 个醇类,其中 21 种化合物上调。

综上所述表明,与对照组 A 相比,处理组 B 和处理组 C 子实体中糖类、氨基酸和有机酸等代谢物均显示上调,与处理组 C 相比,处理组 B 中氨基酸、糖类和有机酸等代谢物显著增加;各实验组代谢物差异的变化说明,栽培条件是影响食用菌风味和营养物质的重要因素之一,这些物质的增加有利于肺形侧耳营养物质的积累,对食用菌的生长有极大的促进作用,同时蛋白和糖类等营养物

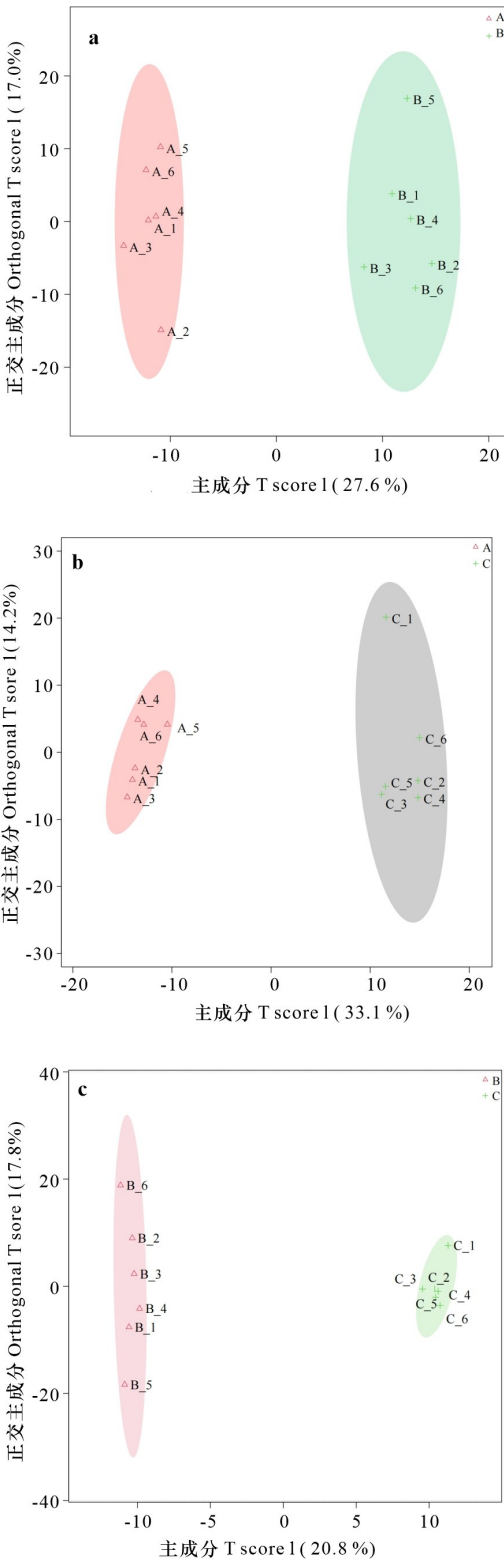


图 a、b、c 分别对应 A & B、A & C 和 B & C 比较组。下同。
Figures a, b, c correspond to comparison groups A & B, A & C, and B & C, respectively. The same below.

图 2 OPLS-DA 得分图
Fig. 2 OPLS-DA score plots

表 1 OPLS-DA 模型的主要评估指标
Table 1 Main evaluation indexes of OPLS-DA model

模型 Model	A & B	A & C	B & C
$R^2 X$ (cum)	0.446	0.473	0.489
$R^2 Y$ (cum)	0.981	0.987	0.998
Q^2 (cum)	0.865	0.922	0.791

注: A-C 注同图 1。 $R^2 X$ (cum)、 $R^2 Y$ (cum). 累积解释率; Q^2 (cum). 模型的预测能力; R^2 . 累积方差值; $R^2 Y$ (cum). 累积解释率; Q^2 . 累积交叉有效性。下同。
Note: A-C as Fig.1. $R^2 X$ (cum) , $R^2 Y$ (cum) . Cumulative interpretation rates; Q^2 (cum) Prediction ability of the model; R^2 . Cumulative variance value; $R^2 Y$ (cum) . Cumulative interpretation rates; Q^2 . Cumulative cross validation. The same below.

质含量水平的增加具有提高食用菌品质的潜力。因此,利用桉木屑栽培的肺形侧耳营养价值更高。

2.4 KEGG 通路注释与分析

2.4.1 KEGG 通路注释结果 KEGG 通路注释结果表明共筛选到代谢通路 115 条,共分成 12 类,主要包括跨膜运输、氨基酸代谢、脂质代谢、能量代谢、辅助因子和维生素的代谢、碳水化合物代谢、核苷酸代谢、萜类化合物和聚酮的代谢、其他氨基酸的代谢、其他次生代谢物的生物合成、内分泌系统和 DNA 的翻译途径。其中, $P<0.05$ 的通路共有 28 条(表 3)。

与对照组 A 相比,处理组 B 共筛选出 8 种差异代谢物通路(亚油酸代谢、赖氨酸降解、醚脂代谢、嘌呤代谢、玉米素生物合成、甘油磷脂代谢、苯丙氨酸代谢和屈烷、哌啶和吡啶生物碱生物合成)。其中,影响极显著($P<0.001$)的是亚油酸代谢(检测到的差异代谢物为 9-羟基亚油酸、9-羟基-10,12-十八碳二烯酸和 13S-过氧化氢-9Z,11E 十八碳二烯酸)。

与对照组 A 相比,处理组 C 共筛选出 15 种差异代谢物通路(赖氨酸降解、亚油酸代谢、ABC 转运蛋白、苯丙氨酸代谢、氧化磷酸化作用、精氨酸生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢、泛酸和辅酶 A 生物合成、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、谷胱甘肽代谢、玉米素生物合成、丁酸代谢、组氨酸代谢、氨基酸生物合成和 2-氧代羧酸代谢)。其中,影响极显著($P<0.001$)的是赖氨酸降解(检测到的差异代谢物为哌啶酸、肉碱、戊二酸、丁二酸和 2-草酸)、亚油酸代谢(检测到的差异代谢物为 9-羟基-

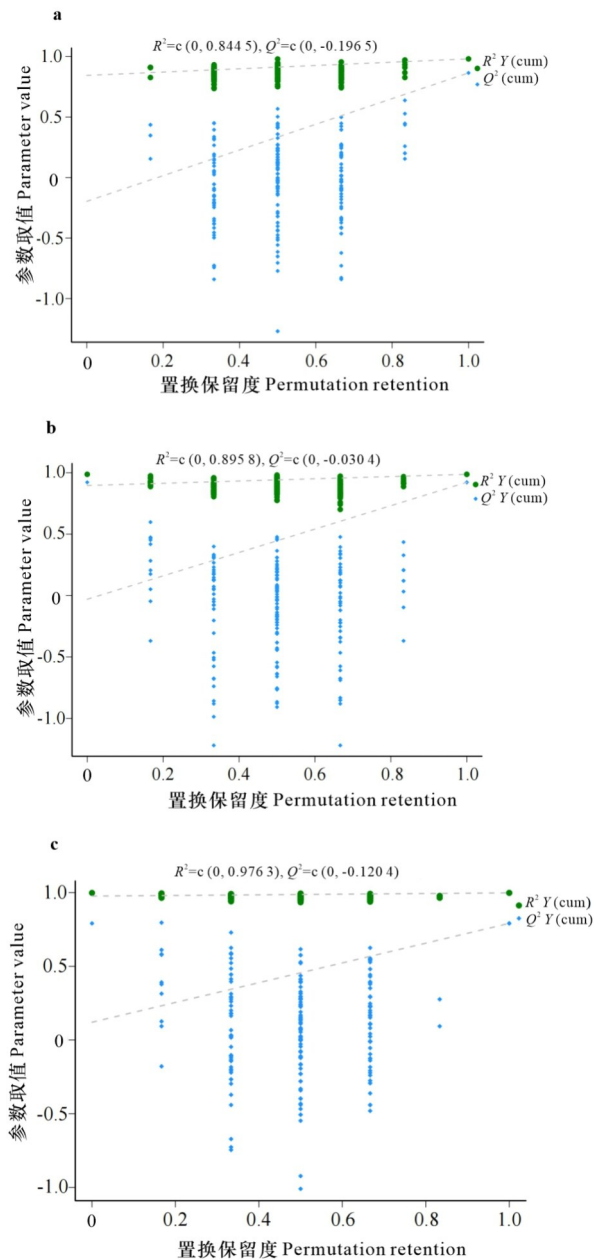


图 a、b、c 分别对应 A & B、A & C 和 B & C 比较组。 $R^2 X(\text{cum})$ 、 $R^2 Y(\text{cum})$. 累积解释率; $Q^2(\text{cum})$. 模型的预测能力; R^2 . 累积方差值; $R^2 Y(\text{cum})$. 累积解释率; Q^2 . 累积交叉有效性。

Figures a, b and c correspond to comparison groups A & B, A & C and B & C respectively. $R^2 X(\text{cum})$, $R^2 Y(\text{cum})$. Cumulative interpretation rates; $Q^2(\text{cum})$ Prediction ability of the model; R^2 . Cumulative variance value; $R^2 Y(\text{cum})$. Cumulative interpretation rates; Q^2 . Cumulative cross validation.

图 3 OPLS-DA 置换检验图

Fig. 3 OPLS-DA permutation test plots

到的差异代谢物为肉碱、L-鸟氨酸、甜菜碱、L-谷氨酸和蔗糖)和苯丙氨酸代谢(检测到的差异代谢物为 2-羟基肉桂酸、D-苯丙氨酸、4-羟基肉桂酸和丁二酸)。

处理组 B 和 C 相比共筛选出 5 种差异代谢通路(ABC 转运蛋白、组氨酸代谢、醚脂代谢、甘油磷脂代谢和赖氨酸降解)。其中,影响极显著($P < 0.001$)的是 ABC 转运蛋白(检测到的差异代谢物为蔗糖、L-谷氨酸、甜菜碱和肉碱)。

2.4.2 KEGG 通路富集分析 KEGG 通路富集分析中 $P < 0.05$ 且重要性值大于 0.10 的代谢通路为显著性代谢通路。处理组 B 和对照组 A 实验中无显著性代谢通路($P > 0.05$)(图 4:a)。处理组 C 和对照组 A 实验中显著性较强的代谢通路共有 4 条(图 4:b):(1)精氨酸生物合成,包括 L-鸟氨酸和 L-谷氨酸;(2)精氨酸和脯氨酸代谢,包括 D-脯氨酸、L-鸟氨酸和 L-谷氨酸;(3)泛酸和辅酶 A 生物合成,包括脱磷酸辅酶和泛酸;(4)丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,包括 L-谷氨酸和丁二酸。处理组 B 和 C 中显著性较强的代谢通路共有 1 条(图 4:c),为组氨酸代谢,参与差异代谢物为麦角硫因和 L-谷氨酸。

3 讨论与结论

代谢物作为生物体表型基础能有效地明确生物学过程及其机理(霍冬菽等,2021)。本研究基于 UHPLC-MS/MS 技术采用非靶向代谢组学,研究桉树加工副产物(桉木屑和桉树皮)与杂木屑等对照基质栽培的肺形侧耳的代谢产物差异。通过代谢组学分析出包括氨基酸、有机酸、糖类、维生素类、生物碱等在内的 137 种差异表达代谢物,本研究发现两个处理组(桉木屑和桉树皮)中氨基酸、糖类和有机酸等代谢物均显示上调,表明这两种栽培基质可以提高肺形侧耳中多糖、蛋白质等营养物质含量水平,具有提高其品质的潜力(林辉等,2022)。然而,对桉木屑处理组和桉树皮处理组中代谢物分析发现,利用桉木屑的使用可促进肺形侧耳代谢物中氨基酸、糖类和有机酸等物质增加,与课题组前期的营养成分研究中,桉木屑肺形侧耳的粗蛋白、可溶性糖和粗灰分的含量高于桉树皮肺形侧耳,而粗脂肪含量较低的结果相佐证。孙瑞祥(2022)研究发现金针菇生长发育过程

10,12-十八碳二烯酸、13S-过氧化氢-9Z,11E 十八碳二烯酸和 9-羟基亚油酸)、ABC 转运蛋白(检测

表 2 差异代谢物筛选
Table 2 Selecting of differential metabolites

实验组 Treatment group	序号 No.	代谢物名称 Metabolite name	变量投影重要度值 Variable importance for the projection	P 值 P value	差异倍数 Fold change	物质变化 Change of substance content
B & A	1	水杨酸 Salicylic acid	1.16	<0.01	0.19	↓
	2	脱磷酸辅酶 A Dephospho-CoA	2.32	<0.01	0.53	↓
	3	5-羟基苯并呋喃-2(3H)-酮 5-hydroxybenzofuran-2(3H)-one	1.45	<0.01	0.23	↓
	4	5'-甲硫腺苷 5'-methylthioadenosine	1.15	<0.01	0.68	↓
	5	13S-过氧化氢-9Z,11E 十八碳二烯酸 13S-hydroperoxy-9Z,11E-octadecadienoic acid	1.69	<0.01	0.12	↓
	6	核黄素 Riboflavin	1.07	<0.01	0.42	↓
	7	4-氧代癸二酸 4-oxododecanedioic acid	1.07	<0.01	0.33	↓
	8	9-羟基-10,12-十八碳二烯酸 9-hydroxy-10,12-octadecadienoic acid	7.39	<0.01	0.17	↓
	9	2-草酸 2-oxoadipic acid	10.10	<0.01	0.63	↓
	10	乙酰-D-肉碱 Acetyl-D-carnitine	5.32	<0.01	0.78	↓
	11	9-过氧化氢-10E,12E 十八碳二烯酸 9-hydroperoxy-10E,12E-octadecadienoic acid	1.63	<0.01	0.11	↓
	12	肉碱 Carnitine	3.31	<0.01	0.81	↓
	13	9,10-二羟基-12,15-十八碳二烯酸 9,10-dihydroxy-12,15-octadecadienoic acid	1.95	<0.01	0.04	↓
	14	9-羟基亚油酸 9-hydroxylinoleic acid	1.13	<0.01	0.33	↓
	15	单油酸甘油酯 Glycerol monolinoleate	1.04	<0.01	0.04	↓
	16	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 NADH	1.02	0.01	0.74	↓
	17	丙酰基肉碱 Propionylcarnitine	1.32	0.03	0.90	↓
	18	2-羟基肉桂酸 2-hydroxycinnamic acid	5.95	<0.01	1.44	↑
	19	对羟基苯甲醛 p-hydroxybenzaldehyde	1.47	<0.01	1.39	↑
	20	N-甲基-L-谷氨酸 N-methyl-L-glutamate	1.27	<0.01	2.31	↑
	21	哌啶 Piperidine	1.70	<0.01	1.28	↑
	22	齐多夫定葡萄糖苷酸 Zidovudine glucuronide	1.14	<0.01	2.82	↑
	23	甘油磷酸胆碱 Glycerolphosphorylcholine	1.76	<0.01	3.75	↑
	24	甘油磷酸胆碱 Glycerophosphocholine	1.21	<0.01	3.80	↑
	25	D-组氨酸 D-histidine	2.74	<0.01	1.94	↑
	26	D-缬氨酸 D-valine	2.99	<0.01	1.28	↑
	27	甲基琥珀酸 Methylsuccinic acid	3.05	<0.01	1.69	↑
	28	(3S,8As)-7-羟基-3-(羟甲基)-2,3,6,7,8,8a-六氢吡咯并 [1,2-a]吡嗪-1,4-二酮 (3S,8As)-7-hydroxy-3-(hydroxymethyl)-2,3,6,7,8,8a- hexahydropyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione	1.15	<0.01	3.42	↑
	29	5'-磷酸腺苷 5'-AMP	3.43	<0.01	1.57	↑
	30	乙酰腺苷酸 Acetyl adenylate	1.36	<0.01	1.54	↑
	31	5-氨基戊酸甜菜碱 5-aminovaleric acid betaine	1.74	<0.01	1.55	↑
	32	D-塔格糖 D-tagatose	2.21	<0.01	1.49	↑
	33	正亮氨酸 Norleucine	3.47	<0.01	1.18	↑
	34	吲哚-3-甲醛 Indole-3-carboxaldehyde	1.29	<0.01	2.18	↑
	35	泛酸钙 Calcium pantothenate	4.88	<0.01	1.55	↑
	36	菠萝蛋白酶 Bromelain	3.80	0.01	1.20	↑
	37	D-酪氨酸 D-tyrosine	2.05	0.01	2.14	↑
	38	L-鸟氨酸 L-ornithine	1.56	0.01	1.44	↑
	39	D-色氨酸 D-tryptophan	6.26	0.01	2.46	↑
	40	D-脯氨酸 D-proline	1.05	0.01	1.44	↑
	41	哌啶酸 Pimelic acid	1.44	0.01	1.48	↑
	42	D-苯丙氨酸 D-phenylalanine	3.71	0.02	1.41	↑

续表 2

实验组 Treatment group	序号 No.	代谢物名称 Metabolite name	变量投影重要度值 Variable importance for the projection	P 值 P value	差异倍数 Fold change	物质变化 Change of substance content
C & A	43	腺苷酸琥珀酸 Adenylosuccinic acid	1.43	0.03	3.33	↑
	44	核糖内酯 Ribonolactone	2.37	0.04	1.19	↑
	45	甲基丙烯酸乙酯 Ethyl methacrylate	1.54	0.04	1.11	↑
	1	脱磷酸辅酶 A Dephospho-CoA	2.22	<0.01	0.48	↓
	2	(2S,3R,4S,5R,6R)-6-乙氧烷-2,3,4,5-四醇 (2S,3R,4S,5R,6R)-6-ethyloxane-2,3,4,5-tetrol	5.48	<0.01	0.38	↓
	3	水杨酸 Salicylic acid	1.13	<0.01	0.07	↓
	4	5-羟基苯并呋喃-2(3H)-酮 5-hydroxybenzofuran-2(3H)-one	1.53	<0.01	0.03	↓
	5	麦角硫因 Ergothioneine	4.42	<0.01	0.81	↓
	6	泛酸钙 Calcium pantothenate	4.19	<0.01	0.62	↓
	7	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 NADH	1.34	<0.01	0.51	↓
	8	肉碱 Carnitine	3.89	<0.01	0.69	↓
	9	核糖内酯 Ribonolactone	3.53	<0.01	0.63	↓
	10	5'-甲硫腺苷 5'-methylthioadenosine	1.08	<0.01	0.61	↓
	11	4-氧代癸二酸 4-oxododecanedioic acid	1.01	<0.01	0.27	↓
	12	戊二酸 Pentanedioic acid	2.40	<0.01	0.67	↓
	13	泛酸 Pantothenic acid	2.48	<0.01	0.59	↓
	14	13S-过氧化氢-9Z,11E-十八碳二烯酸 13S-hydroperoxy-9Z,11E-octadecadienoic acid	1.43	<0.01	0.20	↓
	15	2-乙基-2-羟基丁酸 2-ethyl-2-hydroxybutyric acid	5.02	<0.01	0.39	↓
	16	9-羟基-10,12-十八碳二烯酸 9-hydroxy-10,12-octadecadienoic acid	6.34	<0.01	0.21	↓
	17	9-过氧化氢-10E,12E-十八碳二烯酸 9-hydroperoxy-10E,12E-octadecadienoic acid	1.38	<0.01	0.17	↓
	18	异丁酰肉碱 Isobutyryl carnitine	4.88	<0.01	0.76	↓
	19	9,10-二羟基-12,15-十八碳二烯酸 9,10-dihydroxy-12,15-octadecadienoic acid	1.59	0.01	0.11	↓
	20	9-羟基亚油酸 9-hydroxylinoleic acid	1.03	0.01	0.36	↓
	21	2-草酸 2-oxoadipic acid	5.82	0.01	0.77	↓
	22	9,10-环氧-18-羟基-十八烷酸 9,10-epoxy-18-hydroxy-octadecanoic acid	1.34	0.02	0.31	↓
	23	丁二酸 Succinic acid	2.34	0.03	0.91	↓
	24	阿拉伯呋喃糖 Arabinofuranose	1.54	<0.01	1.50	↑
	25	异丙基-β-D-噻半乳糖吡喃糖苷 Isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside	1.00	<0.01	1.86	↑
	26	D-塔格糖 D-tagatose	2.80	<0.01	1.95	↑
	27	L-谷氨酸 L-glutamic acid	1.82	<0.01	1.52	↑
	28	阿拉比诺酸 Arabinonic acid	4.37	<0.01	1.84	↑
	29	2-脱氧-D-核糖 2-deoxy-D-ribose	2.20	<0.01	1.74	↑
	30	D-组氨酸 D-histidine	2.19	<0.01	1.67	↑
	31	5-氨基丙酸甜菜碱 5-aminovaleric acid betaine	2.19	<0.01	1.86	↑
	32	D-脯氨酸 D-proline	1.54	<0.01	1.94	↑
	33	2-羟基肉桂酸 2-hydroxycinnamic acid	4.54	<0.01	1.32	↑
	34	3'-酮乳糖 3'-ketolactose	4.74	<0.01	1.59	↑
	35	N-乙酰蛋氨酸 N-acetyl-methionine	1.25	<0.01	3.79	↑
	36	D-缬氨酸 D-valine	2.79	<0.01	1.30	↑
	37	L-鸟氨酸 L-ornithine	2.18	<0.01	1.90	↑
	38	5'-磷酸腺苷 5'-AMP	3.36	<0.01	1.71	↑

续表 2

实验组 Treatment group	序号 No.	代谢物名称 Metabolite name	变量投影重要度值 Variable importance for the projection	P 值 P value	差异倍数 Fold change	物质变化 Change of substance content
	39	对羟基苯甲醛 <i>p</i> -hydroxybenzaldehyde	1.20	<0.01	1.33	↑
	40	甜菜碱 Betaine	1.55	<0.01	1.38	↑
	41	氨基己酸 Aminocaproic acid	1.69	<0.01	1.25	↑
	42	哌啶 Piperidine	1.40	<0.01	1.26	↑
	43	龙胆二糖 Gentiobiose	1.02	<0.01	1.37	↑
	44	龙胆二糖苷 Gentiobioside	6.42	<0.01	1.23	↑
	45	脑磷脂 PE (18 : 2/0 : 0)	1.67	<0.01	1.39	↑
	46	蔗糖 Sucrose	4.52	<0.01	1.22	↑
	47	哌啶酸 Pilocolic acid	1.03	<0.01	1.27	↑
	48	4-羟基肉桂酸 4-hydroxycinnamic acid	1.13	0.01	1.48	↑
	49	D-酪氨酸 D-tyrosine	1.07	0.01	1.38	↑
	50	甲氧基苹果酸 Methoxymalic acid	6.52	0.02	1.05	↑
	51	D-色氨酸 D-tryptophan	2.13	0.02	1.23	↑
	52	D-苯丙氨酸 D-phenylalanine	2.06	0.04	1.18	↑
	53	卵磷脂 PC (18 : 2/0 : 0)	1.26	0.01	1.29	↑
B & C	1	核黄素 Riboflavin	1.23	<0.01	0.33	↓
	2	L-谷氨酸 L-glutamic acid	1.96	<0.01	0.62	↓
	3	乙酰-D-肉碱 Acetyl-D-carnitine	5.20	<0.01	0.74	↓
	4	N-乙酰蛋氨酸 N-acetyl-methionine	1.20	<0.01	0.31	↓
	5	2-脱氧-D-核糖 2-deoxy-D-ribose	2.12	<0.01	0.59	↓
	6	异丙基-β-D-噻半乳糖吡喃糖苷 Isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside	1.03	<0.01	0.52	↓
	7	4-羟基肉桂酸 4-hydroxycinnamic acid	1.38	<0.01	0.58	↓
	8	阿拉比诺酸 Arabinonic acid	3.59	<0.01	0.70	↓
	9	甜菜碱 Betaine	1.38	<0.01	0.79	↓
	10	十八烷-9,12-二烯醛 Octadeca-9,12-dienal	1.78	<0.01	0.72	↓
	11	龙胆二糖 Gentiobiose	1.17	<0.01	0.67	↓
	12	龙胆二糖苷 Gentiobioside	6.95	<0.01	0.81	↓
	13	蔗糖 Sucrose	5.02	0.01	0.81	↓
	14	氨基己酸 Aminocaproic acid	1.55	0.01	0.81	↓
	15	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 NADH	1.29	0.02	0.75	↓
	16	甲氧基苹果酸 Methoxymalic acid	8.15	0.02	0.92	↓
	17	2-呋喃甲酸 2-furancarboxylic acid	1.25	0.02	0.91	↓
	18	[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(2,4-二氧嘧啶-1-基)-3,4-二羟基氧 杂环戊烯-2-基]磷酸甲酯 [(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(2,4-dioxypyrimidin-1-yl)-3,4- dihydroxyoxolan-2-yl]methyl dihydrogen phosphate	1.52	0.04	0.84	↓
	19	泛酸 Pantothenic acid	3.03	<0.01	1.81	↑
	20	核糖内酯 Ribonolactone	4.77	<0.01	1.89	↑
	21	甘油磷酸胆碱 Glycerylphosphorylcholine	1.86	<0.01	5.95	↑
	22	甘油磷酸胆碱 Glycerophosphocholine	1.22	<0.01	4.61	↑
	23	2-乙基-2-羟基丁酸 2-ethyl-2-hydroxybutyric acid	6.49	<0.01	3.39	↑
	24	麦角硫因 Ergothioneine	5.10	<0.01	1.29	↑
	25	泛酸钙 Calcium pantothenate	6.82	<0.01	2.50	↑
	26	A-甲基半乳糖 Methyl α-D-galactopyranoside	1.05	<0.01	1.85	↑
	27	3-羟基丁酸甲酯 Methy 3-hydroxybutanoate	1.09	<0.01	1.61	↑
	28	甲基琥珀酸 Methylsuccinic acid	2.76	<0.01	1.55	↑
	29	戊二酸 Pentanedioic acid	2.45	<0.01	1.50	↑

续表 2

实验组 Treatment group	序号 No.	代谢物名称 Metabolite name	变量投影重要度值 Variable importance for the projection	P 值 P value	差异倍数 Fold change	物质变化 Change of substance content
	30	(2S,3R,4S,5R,6R)-6-乙氧烷-2,3,4,5-四醇 (2S,3R,4S,5R,6R)-6-ethyloxane-2,3,4,5-tetrol	5.06	<0.01	2.49	↑
	31	菠萝蛋白酶 Bromelain	3.76	<0.01	1.20	↑
	32	9,10-环氧-18-羟基-十八烷酸 9,10-epoxy-18-hydroxy-octadecanoic acid	1.28	<0.01	2.80	↑
	33	阿拉伯呋喃糖 Arabinofuranose	1.27	<0.01	0.78	↑
	34	3'-酮乳糖 3'-ketolactose	4.09	<0.01	0.73	↑
	35	D-塔格糖 1-磷酸 D-tagatose 1-phosphate	1.97	<0.01	0.76	↑
	36	肉碱 Carnitine	2.32	0.01	1.18	↑
	37	吲哚-3-甲醛 Indole-3-carboxaldehyde	1.09	0.02	1.84	↑
	38	D-色氨酸 D-tryptophan	5.26	0.03	1.99	↑
	39	异丁酰肉碱 Isobutyryl carnitine	3.47	0.04	1.18	↑

注：A-C 注同图 1，下同；↑、↓ 分别表示该物质含量的显著性上升和下降。
Note: A-C as Fig.1, the same below; ↑, ↓ represent the significant increase or decrease of the content of the substance respectively.

中,不同碳氮比栽培配方间氨基酸代谢、次生代谢产物生物合成、脂肪酸代谢、嘌呤与嘧啶的合成、柠檬酸循环、细胞周期等途径有差异,不同碳氮比配方对金针菇生长发育和子实体营养品质产生显著影响。陈丽新等(2015)在对比桉树皮、桉木屑栽培平菇营养成分的研究中也发现桉木屑提高平菇营养成分含量的效果更佳。这表明肺形侧耳差异代谢物种类和表达与培养料成分差异密切相关,可能与微生物分解后释放出可利用营养物质的质与量的差异有关。

在桉树皮和桉木屑栽培的肺形侧耳子实体中显著上调且差异倍数较大的物质,如羟基肉桂酸类化合物、对羟基苯甲醛、甘油磷酸胆碱、甘油磷酸胆碱、甜菜碱和氨基己酸等化合物均具有显著的生物活性;羟基肉桂酸类化合物是的一类酚酸类化合物,在阿尔茨海默病治疗中的作用日益凸显(徐李亮等,2022);对羟基苯甲醛通过促进相关信号通路来改善大鼠肝脏氧化应激、炎症反应,减少脂质合成,从而改善克罗恩病(许晓飞等,2022)和非酒精性脂肪肝(刘梦等,2022);甘油磷酸胆碱具有治疗老年痴呆、脑部中风、促进青少年身体成长、提高记忆力等方面的功效(卢志花和江磊,2018);甘油磷酸胆碱具有降低高血脂、改善老年人的记忆和认知能力、治疗阿尔茨海默病和修复脑神经损伤病等功效(鹿保鑫和张文喆,2015);甜菜碱具有维持细胞渗透压、转甲基、调节脂肪代谢等生物功能,其作为饲料添加剂可调节动物蛋白

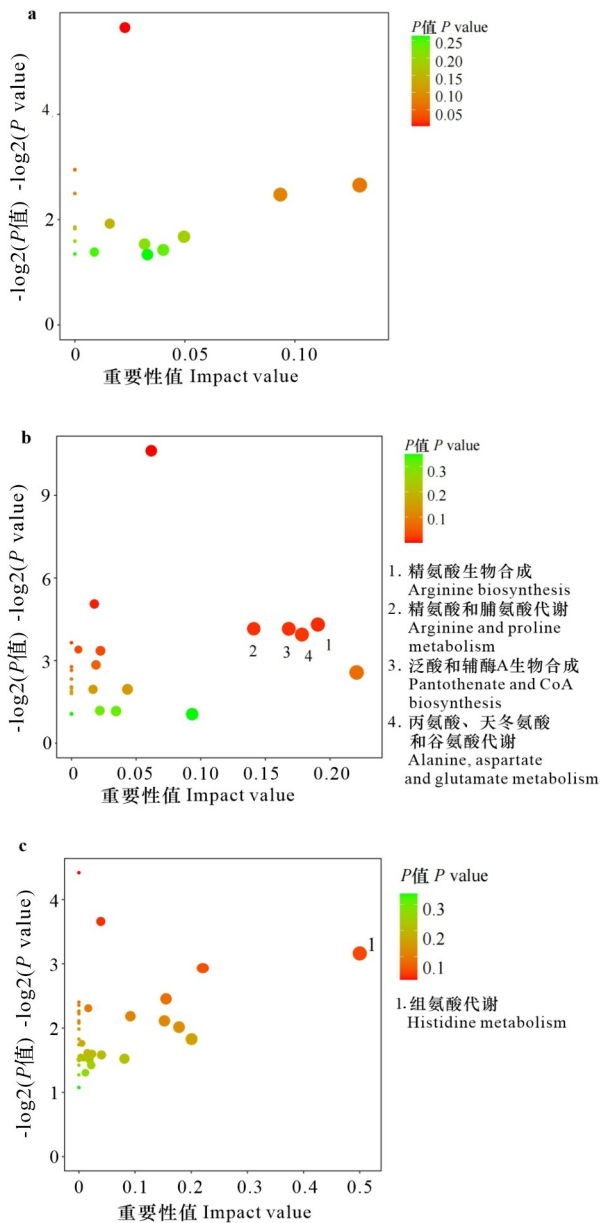
质合成和脂肪代谢,增强机体免疫力与抗氧化能力(李顺泽等,2022);氨基己酸在临床上已广泛应用于骨科、胸外、脑外等手术术中和术后出血的防控和纤溶亢进性疾病(罗序睿和黄亮,2022)。这些活性显著的化合物的显著上调表明,利用桉树加工副产物代替杂木屑等基质栽培肺形侧耳可显著提高其营养成分和活性物质的含量及其食用价值。

食用菌风味包括香味(依赖于挥发性风味成分)与滋味(取决于非挥发性呈味物质的种类及含量)(李晶等,2021),如呈味氨基酸、风味核苷酸、有机酸、呈味肽以及其他类呈味物质。KEGG 富集分析发现差异显著的代谢通路主要涉及精氨酸生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢、泛酸和辅酶 A 生物合成和丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,其主要与辅助因子和维生素的代谢、氨基酸代谢等生理作用相关。代谢通路分析可知,不同栽培基质对肺形侧耳中氨基酸、维生素等辅助因子的合成代谢影响较大,桉树皮和桉木屑栽培的肺形侧耳中谷氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸等呈味氨基酸上调,说明利用桉树加工副产物(桉树皮和桉木屑)作为肺形侧耳的主要栽培基质可显著改善其子实体风味,并为肺形侧耳种植、品质评价等提供一定的科学依据。

此外课题组研究发现以桉木屑为主料栽培肺形侧耳,投产比可达 1.00 : 1.96(王灿琴等,2016),综合多方面因素可知,桉树皮和桉木屑(尤其是桉木屑)作为肺形侧耳的主要栽培基质可实

表 3 KEGG 通路注释结果
Table 3 KEGG pathway annotation

实验组 Experi- mental group	序号 No.	代谢通路 Metabolic pathway	代谢物数目 Metabolite quantity	P 值 P value	参与的差异代谢物 Differential metabolites involved
B & A	1	亚油酸代谢 Linoleic acid metabolism	3	<0.001	9-羟基亚油酸, 9-羟基-10,12-十八碳二烯酸, 13S-过氧化氢-9Z, 11E 十八碳二烯酸 9-hydroxylinoleic acid, 9-hydroxy-10,12-octadecadienoic acid, 13S-hydroperoxy-9Z,11E-octadecadienoic acid
	2	赖氨酸降解 Lysine degradation	3	0.002	哌啶酸, 肉碱, 2-草酸 Pipelicolic acid, carnitine, 2-oxoadipic acid
	3	醚脂代谢 Ether lipid metabolism	2	0.008	甘油磷酸胆碱, 甘油磷酸胆碱 Glycerophosphocholine, glycerylphosphorylcholine
	4	嘌呤代谢 Purine metabolism	3	0.011	腺苷酸基琥珀酸, 乙酰腺苷酸, 5'-甲硫腺苷 Adenylosuccinic acid, acetyl adenylate, 5'-amp
	5	玉米素生物合成 Zeatin biosynthesis	2	0.017	5'-磷酸腺苷, 5'-甲硫腺苷 5'-amp, 5'-methylthioadenosine
	6	甘油磷脂代谢 Glycerophospholipid metabolism	2	0.027	甘油磷酸胆碱, 甘油磷酸胆碱 Glycerophosphocholine, glycerylphosphorylcholine
	7	屈烷、哌啶和吡啶生物碱生物合成 Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis	2	0.043	哌啶酸, 哌啶 Pipelicolic acid, piperidine
	8	苯丙氨酸代谢 Phenylalanine metabolism	2	0.049	D-苯丙氨酸, 2-羟基肉桂酸 D-phenylalanine, 2-hydroxycinnamic acid
C & A	1	赖氨酸降解 Lysine degradation	5	<0.001	哌啶酸, 肉碱, 戊二酸, 丁二酸, 2-草酸 Pipelicolic acid, carnitine, pentanedioic acid, succinic acid, 2-oxoadipic acid
	2	亚油酸代谢 Linoleic acid metabolism	3	<0.001	9-羟基-10,12-十八碳二烯酸, 过氧化氢-9Z,11E 十八碳二烯酸, 9-羟基亚油酸 9-hydroxy-10,12-octadecadienoic acid, 13S-13S-hydroperoxy-9Z, 11E-octadecadienoic acid, 9-hydroxylinoleic acid
	3	ABC 转运蛋白 ABC transporters	5	0.001	肉碱, L-鸟氨酸, 甜菜碱, L-谷氨, 酸蔗糖 Carnitine, L-ornithine, betaine, L-glutamic acid, sucrose
	4	苯丙氨酸代谢 Phenylalanine metabolism	4	0.001	羟基肉桂酸 D-苯丙氨酸, 4-羟基肉桂酸, 丁二酸 D-phenylalanine, 4-hydroxycinnamic acid, succinic acid, 2-hydroxycinnamic acid
	5	氧化磷酸化作用 Oxidative phosphorylation	2	0.005	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸, 丁二酸 NADH, succinic acid
	6	精氨酸生物合成 Arginine biosynthesis	2	0.009	鸟氨酸, L-谷氨酸 L-ornithine, L-glutamic acid
	7	精氨酸和脯氨酸代谢 Arginine and proline metabolism	3	0.012	脯氨酸, L-鸟氨酸, L-谷氨酸 D-proline, L-ornithine, L-glutamic acid
	8	泛酸和辅酶 A 生物合成 Pantothenate and CoA biosynthesis	2	0.014	脱羧辅酶, 泛酸 ADepospho-CoA, pantothenic acid
	9	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 Alanine, aspartate and glutamate metabolism	2	0.015	谷氨酸, 丁二酸 L-glutamic acid, succinic acid
	10	谷胱甘肽代谢 Glutathione metabolism	2	0.024	鸟氨酸, L-谷氨酸 L-ornithine, L-glutamic acid
	11	玉米素生物合成 Zeatin biosynthesis	2	0.025	5'-甲硫腺苷, 5'-腺苷酸 5'-methylthioadenosine, 5'-AMP
	12	丁酸代谢 Butanoate metabolism	2	0.028	谷氨酸, 丁二酸 L-glutamic acid, succinic acid
	13	组氨酸代谢 Histidine metabolism	2	0.034	麦角硫因, L-谷氨酸 Ergothioneine, L-glutamic acid
	14	氨基酸生物合成 Biosynthesis of amino acids	3	0.039	草酸, L-鸟氨酸, L-谷氨酸, 2-oxoadipic acid, L-ornithine, L-glutamic acid
	15	2-氧代羧酸代谢 2-oxocarboxylic acid metabolism	3	0.044	草酸, L-鸟氨酸, L-谷氨酸 2-oxoadipic acid, L-ornithine, L-glutamic acid
B & C	1	ABC 转运蛋白 ABC transporters	4	<0.001	蔗糖, L-谷氨酸, 甜菜碱, 肉碱 Sucrose, L-glutamic acid, betaine, carnitine
	2	醚脂代谢 Ether lipid metabolism	2	0.003	甘油磷酸胆碱, 甘油磷酸胆碱 Glycerophosphocholine, glycerylphosphorylcholine
	3	组氨酸代谢 Histidine metabolism	2	0.010	麦角硫因, L-谷氨酸 Ergothioneine, L-glutamic acid
	4	甘油磷脂代谢 Glycerophospholipid metabolism	2	0.013	甘油磷酸胆碱, 甘油磷酸胆碱 Glycerophosphocholine, glycerylphosphorylcholine
	5	赖氨酸降解 Lysine degradation	2	0.014	戊二酸, 肉碱 Pentanedioic acid, carnitine



纵轴和横轴分别表示富集显著性 $-\log_2(P \text{ 值})$ 和相对重要性的值;图中每个气泡表示一个代谢通路,气泡大小代表相对重要性的值的大小,颜色的深浅表示 $P \text{ 值}$ 的大小。

The ordinate and abscissa represent the enrichment significance $-\log_2(P \text{ value})$ and impact value, respectively. Each bubble in the figure represents a pathway, with the bubble size representing the impact value and the depth of color of bubble representing the $P \text{ value}$.

图 4 KEGG 富集通路图

Fig. 4 KEGG enrichment pathway diagrams

现资源再利用且同时降本增效,并促进桉树产业和食用菌产业共同健康、快速、可持续发展。

参考文献:

- CHEN LX, HUANG ZZ, CHEN ZN, et al., 2015. Analysis on nutritive component and heavy metal of *Pleurotus ostreatus* cultivated with bark and sawdust of eucalyptus [J]. J S Agric, 46(10): 1883–1886. [陈丽新, 黄卓忠, 陈振妮, 等, 2015. 桉树皮、桉树屑栽培平菇营养成分和重金属分析 [J]. 南方农业学报, 46(10): 1883–1886.]
- DAI ZQ, LUO YX, XU JQ, et al., 2022. Effect of chitosan-tea polyphenol composite coating on the preservation of *Pleurotus geesteranus* [J]. Food Res Dev, 43(22): 42–47. [戴照琪, 罗元鑫, 许俊齐, 等, 2022. 茶多酚-壳聚糖复合涂膜对秀珍菇保鲜效果的影响 [J]. 食品研究与开发, 43(22): 42–47.]
- DUAN D, LIN C, ZHANG Y, et al., 2021. The experiment of *Pleurotus geesteranus* cultivation with different waste exogenous nutrition bags of *Morchella* spp. [J]. Edib Fungi Chin, 40(12): 34–37. [段丹, 林川, 张宇, 等, 2021. 利用羊肚菌外源营养袋废料不同配方栽培秀珍菇试验 [J]. 中国食用菌, 40(12): 34–37.]
- FANG ZR, LIN J, QING Y, et al., 2021. Study on the cultivation of *Schizophyllum commune* and *Pleurotus geesteranus* with grape and mulberry cuttings [J]. Sci Technol Sichuan Agric, (10): 20–25. [方志荣, 林静, 清源, 等, 2021. 利用葡萄枝屑、桑枝屑栽培白参菌、秀珍菇的研究 [J]. 四川农业科技, (10): 20–25.]
- GAO LX, GAO WX, CAI WM, 2022. Screening of high-quality and high-yield *Pleurotus pulmonarius* strains cultivated in summer [J]. Edib Med Mushrooms, 30(3): 211–214. [高励勋, 高文兴, 蔡为明, 2022. 秀珍菇反季栽培的优质高产菌株筛选 [J]. 食药菌, 30(3): 211–214.]
- HUANG BC, HU XY, LUO MH, et al., 2023. Comparative experiment on fermentation time of *Ganoderma lucidum* compost for eucalyptus sawdust cultivation [J]. Edib Fungi, 45(1): 40–42. [黄保成, 胡秀月, 骆美花, 等, 2023. 桉树木屑栽培灵芝堆料发酵时间比较试验 [J]. 食用菌, 45(1): 40–42.]
- HUO DA, TIAN RF, REN YQ, et al., 2022. UPLC-MS/MS-based metabolomic characterization and contrastive analysis between *Allium wallichii* and *A. tuberosum* seeds [J]. Guihaia, 42(12): 1995–2006. [霍冬敖, 田瑞丰, 任永权, 等, 2022. 基于 UPLC-MS/MS 技术的野生及栽培韭菜籽的代谢组学研究 [J]. 广西植物, 42(12): 1995–2006.]
- JIANG ZX, REN SQ, DU AP, 2021. Calculation of carbon sequestration and oxygen release by eucalyptus plantations in Guangxi Province [J]. Eucalypt Sci Technol, 38(2): 45–47. [姜仲翔, 任世奇, 杜阿朋, 2021. 广西桉树人工林固碳释氧总量核算 [J]. 桉树科技, 38(2): 45–47.]

- KANG C, WANG F, LIU YY, et al., 2016. Research progress of edible fungi cultivation with agricultural and forestry residues [J]. Guizhou Agric Sci, 44(1): 56–61. [康超, 王芳, 刘盈盈, 等, 2016. 我国农林废弃物栽培食用菌的研究进展 [J]. 贵州农业科学, 44(1): 56–61.]
- LI KL, 2012. Studies on composition differences of metabolism of selected entomogeneous fungi, mushroom and plant pathogenic fungi [D]. Hefei: Anhui Agricultural University. [李康乐, 2012. 几种虫生菌、食用菌和植物病原真菌代谢组差异比较研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学.]
- LI SZ, WU ZH, WANG JL, 2022. Research progress on biological function, pharmacological activity and application of betaine in animal production [J]. Feed Res, 45(21): 150–155. [李顺泽, 伍振煌, 王俊龙, 2022. 甜菜碱的生物功能、药理活性及其在动物生产中的应用研究进展 [J]. 饲料研究, 45(21): 150–155.]
- LI XW, LI QZ, LÜ LY, et al., 2020. Economic benefit analysis of 6-year-old eucalypt plantation in Guangxi state-owned Gaofeng forest farm [J]. Guangxi For Sci, 49(4): 613–617. [黎学文, 李起泽, 吕兰英, 等, 2020. 广西国有高峰林场6年生桉树人工林经济效益分析 [J]. 广西林业科学, 49(4): 613–617.]
- LI J, ZHEN XQ, LIU XL, 2021. The effect on nutritional value and non-volatile flavor substance content of *Pleurotus eryngii* with fermentable corn steep liquor [J]. Food Mach, 37(12): 46–51. [李晶, 郑喜群, 刘晓兰, 2021. 玉米浆发酵液对杏鲍菇营养价值和非挥发性呈味物质含量的影响 [J]. 食品与机械, 37(12): 46–51.]
- LIN H, LI NN, LI JH, et al., 2022. Correlation analysis between *Hypsizygus marmoreus* fruiting yield and metabolism of intracellular and extracellular carbon [J]. Mycosystema, 41(9): 1506–1518. [林辉, 李娜娜, 李佳欢, 等, 2022. 斑玉蕈出菇产量与胞内外碳代谢的相关性分析 [J]. 菌物学报, 41(9): 1506–1518.]
- LIU CL, LIU SX, SUN DF, et al., 2021. Cultivation of *Auricularia heimuer* with *Eucalyptus* spp. substrates and analysis of its nutritional contents [J]. Edib Fungi Chin, 40(12): 30–33. [刘春丽, 刘绍雄, 孙达锋, 等, 2021. 利用桉树木屑栽培黑木耳及其营养成分分析 [J]. 中国食用菌, 40(12): 30–33.]
- LIU LY, ZHOU Y, CHEN H, et al., 2020. Research progress of *Pleurotus geesteranus* [J]. Microbiol Chin, 47(11): 3650–3657. [刘凌云, 周宇, 陈华, 等, 2020. 秀珍菇研究进展 [J]. 微生物学通报, 47(11): 3650–3657.]
- LIU M, LIU ST, LU X, et al., 2022. Protective effect of *p*-hydroxybenzaldehyde, an active ingredient of *Nostoc commune* on non-alcoholic fatty liver in rats based on AMPK/ACC signaling pathway [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 39(19): 2429–2436. [刘梦, 刘舒庭, 卢曦, 等, 2022. 基于 AMPK/ACC 信号通路研究雷公菌活性成分对羟苯甲醛对大鼠非酒精性脂肪肝的保护作用 [J]. 中国现代应用药学, 39(19): 2429–2436.]
- LIU M, XIAO ZT, QIU YM, et al., 2016. Utilization of industry-cultivated *Flammulina velutipes* spent compost as substrate for *Pleurotus geesteranus* cultivation [J]. Guangdong Agric Sci, 43(10): 48–52. [刘明, 肖自添, 邱耀明, 等, 2016. 利用金针菇渣栽培秀珍菇试验 [J]. 广东农业科学, 43(10): 48–52.]
- LIU MH, 2010. Summary of current situation and prospect of utilization and exploitation of the remainders from forestry industry [J]. For Surv Plann, 35(3): 62–63+67. [刘曼红, 2010. 林业“三剩物”的开发利用现状和前景概述 [J]. 林业调查规划, 35(3): 62–63+67.]
- LIU Q, KONG WL, XU K, et al., 2021. The dynamics of microorganisms and metabolites in culture compost during the cultivation of *Pleurotus ostreatus* [J]. Mycosystema, 40(6): 1458–1479. [刘芹, 孔维丽, 徐柯, 等, 2021. 糙皮侧耳不同生长时期发酵料中微生物和代谢物的变化 [J]. 菌物学报, 40(6): 1458–1479.]
- LONG HY, CHENG LX, 2019. Study on the cultivation of *Pleurotus ostreatus* with the residue of *Volvariella volvacea* [J]. Rural Sci Technol, (3): 55–57. [隆海玉, 程隆祥, 2019. 利用草菇菌渣栽培秀珍菇的研究 [J]. 农村科技, (3): 55–57.]
- LU BX, ZHANG WZ, 2015. Review on preparation and purification technology of glycerolphosphate choline [J]. J Heilongjiang Bayi Agric Unvi, 27(2): 46–50. [鹿保鑫, 张文喆, 2015. 甘油磷酸胆碱制备及纯化技术研究进展 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 27(2): 46–50.]
- LU ZH, JIANG L, 2018. Analysis of current status and trends of patent application of glycerophosphoryl choline in medical area [J]. Chin Invent Patent, 15(S2): 54–58. [卢志花, 江磊, 2018. 甘油磷酸胆碱医药领域专利现状与发展趋势分析 [J]. 中国发明与专利, 15(S2): 54–58.]
- LU ZQ, TANG X, HAN ML, et al., 2021. Effect of eucalyptus sawdust fermented by *Bacillus subtilis* on the growth of *Clitocybe maxima* [J]. Horti Seed, 41(9): 12–14. [卢中强, 唐璇, 韩美丽, 等, 2021. 桉树木屑与枯草芽孢杆菌结合对猪肚菇生长影响 [J]. 园艺与种苗, 41(9): 12–14.]
- LUO XR, HUANG L, 2022. Research status on the clinical application of aminocaproic acid [J]. Chin J Clin Pharmacol, 38(16): 1967–1971. [罗序睿, 黄亮, 2022. 氨基己酸临床应用的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 38(16): 1967–1971.]
- LUO YL, WANG CQ, HU XY, et al., 2023. Untargeted metabolomics analysis of *Pleurotus pulmonarius* cultivated with eucalyptus processing byproducts and conventional

- substrates [J]. *Acta Edul Fungi*, 30(2): 19–31. [罗阳兰, 王灿琴, 胡秀月, 等, 2023. 利用非靶向代谢组学分析桉树加工副产物与常规基质栽培的肺形侧耳代谢物差异 [J]. *食用菌学报*, 30(2): 19–31.]
- SUN RX, 2022. Effects and molecular mechanism of the formulation based on soybean straw on the growth and development of *Flammulina filiformis* [D]. Yantai: Ludong University. [孙瑞祥, 2022. 以豆秸为主料的基质配方对金针菇生长发育的影响及其分子机制 [D]. 烟台: 鲁东大学.]
- TANG J, ZHAO XY, QIN ZY, et al., 2021. Soil fertility evolution characteristics in main eucalyptus producing areas of Guangxi: 1993–2018 [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 37(1): 94–99. [唐健, 赵隽宇, 覃祚玉, 等, 2021. 1993–2018 年广西桉树主产区土壤肥力演变特征分析 [J]. *中国农学通报*, 37(1): 94–99.]
- WANG CQ, WEI SY, WU SJ, et al., 2018. Screening of *Hericium erinaceus* strains suitable for eucalyptus sawdust cultivation [J]. *SW Chin J Agric Sci*, 31(3): 566–570. [王灿琴, 韦仕岩, 吴圣进, 等, 2018. 适宜桉木屑栽培的猴头菇优良菌株筛选 [J]. *西南农业学报*, 31(3): 566–570.]
- WANG CQ, WU SJ, WEI SY, et al., 2016. Screening for cultivation medium formula of *Pleurotus pulmonarius* with eucalyptus sawdust as main material [J]. *J S Agric*, 47(4): 624–628. [王灿琴, 吴圣进, 韦仕岩, 等, 2016. 以桉木屑为主料的秀珍菇栽培配方筛选 [J]. *南方农业学报*, 47(4): 624–628.]
- WANG NN, WANG YG, FENG WJ, et al., 2022. Optimization of high-quality and high-yield cultivation formula for *Pleurotus geesteranus* [J]. *Edib Fungi Chin*, 41(1): 32–35. [王南南, 王玉国, 冯雯杰, 等, 2022. 秀珍菇优质高产栽培配方优化 [J]. *中国食用菌*, 41(1): 32–35.]
- XU LL, SHI L XJ, LI RS, et al., 2022. Progress of hydroxycinnamic acids and their derivatives in Alzheimer's disease [J]. *Strait Pharm J*, 34(8): 78–82. [徐李亮, 施罗欣洁, 李若赛, 等, 2022. 羟基肉桂酸类化合物及其衍生物在阿尔茨海默病治疗中的研究进展 [J]. *海峡药学*, 34(8): 78–82.]
- XU XF, LUO AL, XU XT, et al., 2022. Study on the therapeutic effect of *p*-hydroxybenzaldehyde on TNBS-induced Crohn's disease in mice based on PPAR γ /AMPK / NF- κ B signaling pathway [J]. *Nat Prod Res Dev*, 34(6): 925–933. [许晓飞, 罗爱林, 徐笑天, 等, 2022. 基于 PPAR γ /AMPK/NF- κ B 信号通路研究对羟基苯甲醛对 TNBS 诱导的小鼠克罗恩病的治疗作用 [J]. *天然产物研究与开发*, 34(6): 925–933.]
- YANG J, JIANG YZ, JIN YS, et al., 2023. Differential analysis of phenolic acid metabolites in fruitbody of *Morchella esculenta* based on UPLC-MS/MS [J]. *Chin Brew*, 42(4): 125–130. [杨建, 江煜章, 靳雨松, 等, 2023. 基于 UPLC-MS/MS 羊肚菌子实体酚酸类代谢物差异分析 [J]. *中国酿造*, 42(4): 125–130.]
- YE JQ, LAN TJ, HUANG ZZ, et al., 2021. Application of eucalyptus bark in *Volvariella volvacea* production [J]. *Eucalypt Sci Technol*, 38(1): 57–61. [叶建强, 蓝桃菊, 黄卓忠, 等, 2021. 桉树皮在草菇生产上的应用研究 [J]. *桉树科技*, 38(1): 57–61.]
- YUAN B, XU LH, LIAN YP, et al., 2020. Effects of different culture substrates on yield and quality of *Pleurotus eryngii* [J]. *Trop Agric Sci*, 40(4): 31–36. [袁滨, 徐丽红, 连燕萍, 等, 2020. 不同栽培基质对杏鲍菇产量及品质的影响 [J]. *热带农业科学*, 40(4): 31–36.]
- ZHANG JP, LI XB, YING Y, et al., 2019a. Effect of *Carya cathayensis* sarg shell substrate on yield and nutrient amount of *Pleurotus geesteranus* [J]. *J Geosci Environ Prot*, 7(11): 11–23.
- ZHANG JP, LI XB, YING Y, et al., 2019b. Effects of the *Camellia oleifera* shell substrate on the yield and nutritional composition of *Pleurotus geesteranus* [J]. *Agric Sci*, 10(10): 1298–1311.

(责任编辑 李 莉)