

比较代谢组学分析桑枝屑栽培对瓦尼桑黄代谢的影响

宋吉玲¹, 闫静¹, 陆娜¹, 程俊文², 周祖法¹, 林佳瑶¹, 王伟科^{1*}, 袁卫东^{1*}

1 杭州市农业科学研究院 浙江 杭州 310024

2 浙江省林业科学研究院 浙江 杭州 310023

摘要: 本研究以杂木屑及桑枝屑栽培的瓦尼桑黄子实体为研究对象, 基于液质联用技术检测出代谢产物共 2 996 种, 其中差异代谢物 628 种, 上调 435 种, 下调 193 种, 主要集中在有机酸及其衍生物, 有机杂环化合物、脂质和类脂分子、有机含氧化合物、苯环型化合物、苯丙素类和聚酮类、核苷酸及其类似物、氨基酸和糖苷类等。KEEG 代谢通路分析结果表明, 差异显著的代谢通路有 5 条, 分别为磷酸戊糖途径、果糖和甘露糖代谢、糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚生物合成、硫胺素代谢和嘧啶代谢, 主要围绕糖类物质代谢为主。通过本研究发现, 桑枝屑的添加对瓦尼桑黄子实体中次级代谢产物的合成和累积具有显著的促进作用, 为瓦尼桑黄的精准化栽培和开发利用提供技术支撑。

关键词: 瓦尼桑黄; 桑枝屑; 超高效液相色谱-质谱技术

[引用本文]

宋吉玲, 闫静, 陆娜, 程俊文, 周祖法, 林佳瑶, 王伟科, 袁卫东, 2023. 比较代谢组学分析桑枝屑栽培对瓦尼桑黄代谢的影响. 菌物学报, 42(11): 2231-2243

Song JL, Yan J, Lu N, Cheng JW, Zhou ZF, Lin JY, Wang WK, Yuan WD, 2023. Analysis of impact of mulberry sawdust on the metabolism of *Sanghuangporus vaninii* based on comparative metabolomics. Mycosystema, 42(11): 2231-2243

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-20); 国家自然科学基金(31501815); 浙江省科技厅项目(2021F1065-8, 2021C02073-7); 杭州市财政项目(2023JXZC-01)

This work was supported by the Special Fund Project of Modern Agricultural Industrial Technology System (CARS-20), the National Natural Science Foundation of China (31501815), the Project of Science Technology Department of Zhejiang Province (2021F1065-8, 2021C02073-7), and the Financial Project of Hangzhou (2023JXZC-01).

*Corresponding authors. E-mail: WANG Weike, akeak@126.com; YUAN Weidong, ywd0507@126.com

ORCID: SONG Jiling (0000-0003-4858-4319), WANG Weike (0000-0002-2228-6519), YUAN Weidong (0000-0002-3597-6981)

Received: 2023-04-17; Accepted: 2023-05-22

Analysis of impact of mulberry sawdust on the metabolism of *Sanghuangporus vaninii* based on comparative metabolomics

SONG Jiling¹, YAN Jing¹, LU Na¹, CHENG Junwen², ZHOU Zufa¹, LIN Jiayao¹,
WANG Weike^{1*}, YUAN Weidong^{1*}

¹ Hangzhou Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310024, Zhejiang, China

² Zhejiang Academy of Forestry, Hangzhou 310023, Zhejiang, China

Abstract: Based on the analysis of liquid chromatography-mass spectrometry, 2 996 metabolites were detected from basidiomata of *Sanghuangporus vaninii* cultivated with mixed sawdust and mulberry sawdust, including 628 differential metabolites of which 435 were upregulated and 193 downregulated. The metabolites were mainly organic acids and their derivatives, organic heterocyclic compounds, lipids and lipid molecules, organic oxygen-containing compounds, benzene ring compounds, phenylpropanoids and polyketides, nucleotides and their analogs, amino acids, and glycosides. KEGG metabolic pathway analyses showed that there were 5 significantly different metabolic pathways primarily focusing on carbohydrate metabolism, including pentose phosphate pathway, fructose and mannose metabolism, glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor biosynthesis, thiamine metabolism, and pyrimidine metabolism. It was found that the addition of mulberry sawdust could significantly promote the synthesis and accumulation of secondary metabolites in the basidiomata of *S. vaninii*, and thereby this result provides technical support for the precise cultivation and development of *S. vaninii*.

Keywords: *Sanghuangporus vaninii*; mulberry sawdust; ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS)

桑黄 *Sanghuangporus* Sheng H. Wu, L.W. Zhou & Y.C. Dai 是一类多年生大型药用真菌的统称(戴玉成 2003; Dai *et al.* 2009; Zhou *et al.* 2016; 吴声华和戴玉成 2020)。现代药理研究表明, 桑黄子实体中富含多糖(Yang *et al.* 2020; Yi *et al.* 2020; 王豪等 2021)、黄酮(Yeo *et al.* 2007)、三萜(Jiang *et al.* 2018)及多酚(吕国英等 2021)等多种活性成分, 在抗肿瘤(Wang *et al.* 2018; 刘漠浩和曾建红 2023)、抗氧化(宋吉玲等 2022, 2023)、抗炎(Lee *et al.* 2017)、保肝(Huang *et al.* 2018; Shan *et al.* 2019)、降血糖(Cheng *et al.* 2020)和调节免疫(Wen *et al.* 2019)等方面具有良好的功效。桑黄作为天然的免疫调节剂和生物抗癌中最有效的一种食药兼用真

菌, 在医药和保健领域具有重要的应用价值(Wu *et al.* 2019)。

桑黄作为一类药用真菌, 因其在抑制肿瘤细胞生长和提高免疫方面具有显著疗效(高雯雯等 2014; 史帧婷和包海鹰 2016), 桑黄及其提取物在世界范围内获得广泛认可。桑黄类真菌在世界范围内分布 18 个种, 而在我国就有 11 个种(吴声华和戴玉成 2020), 其中多个种类仅限于野生状态分布, 仅有瓦尼桑黄 *Sanghuangporus vaninii* (Ljub.) L.W. Zhou & Y.C. Dai 和鲍姆桑黄 *S. baumii* (Pilát) L.W. Zhou & Y.C. Dai 可以实现人工栽培(宋吉玲等 2020)。其中瓦尼桑黄因其抗性强、产量高和生长周期短等优势, 在全国范围内均有栽培, 已成为桑黄类真菌开发与研究的主

导品种之一。而在人工栽培过程中,会因栽培品种和栽培模式的不同,使得桑黄在活性成分和生物活性上存在显著的差异(楚文琪等 2023)。侯玉浩等(2022)研究发现,人工代料栽培的瓦尼桑黄子实体的总黄酮和总酚含量较高,体外抗肿瘤活性表现最好;而李小欢等(2021)则认为人工代料栽培的子实体在活性成分和抗氧化活性方面表现相对较弱,出现这一情况可能是与人工代料栽培的培养基质有所差异有关。结合本团队的研究(宋吉玲等 2023)发现,在瓦尼桑黄栽培的培养基质中添加一定量的桑枝屑,可有效促进多糖、黄酮和多酚含量积累,并对其抗氧化活性具有显著的促进作用,且随着桑枝屑添加量的增多而逐渐增强。

本研究在前期研究的基础上,以杂木屑和桑枝屑栽培的瓦尼桑黄子实体为研究对象,基于高效液相色谱串联质谱技术,比较分析筛选出具有重要生物学意义和统计显著差异的代谢物,以此来说明桑枝屑对瓦尼桑黄的代谢过程和机制(陈美伴 2019; 封富 2020),旨在为瓦尼桑黄的精准化栽培、质量控制和评价体系的建立奠定良好的基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌株

瓦尼桑黄 *Sanghuangporus vaninii* 菌株 S1, GenBank 中序列登录号为 MN153566,保存于杭州市农业科学研究院。

1.1.2 栽培配方

配方①: 杂木屑 79%, 麸皮 20%, 石灰 1%; 配方②: 桑枝屑 79%, 麸皮 20%, 石灰 1%。按照常规方法进行管理,于原基形成后培养 75 d 采收子实体。其中以配方①栽培的瓦尼桑黄子实体编号为 P10, 配方②栽培的瓦尼桑黄子实体编号为 P14。

1.1.3 主要试剂和仪器

试剂: 甲醇(LC-MS 级, Merck)、乙腈(LC-MS 级, Merck)、L-2-氯苯丙氨酸(2-chloro-L-phenylalanine, 纯度 \geq 98%, 上海阿拉丁)、甲酸(formic acid, LC-MS 级, TCI)。仪器: 超高效液相(Waters UPLC Acquity I-Class PLUS, Waters); 高分辨质谱(Waters UPLC Xevo G2-XS QTOF, Waters); 色谱柱(Aquity UPLC HSS T3 1.8 μ m, 2.1 mm \times 100 mm, Waters)。

1.2 样品制备

选取样品各 3 份于真空冷冻干燥, 研磨(30 Hz, 1.5 min)成粉末。100 mg 样品粉末溶解于甲醇:乙腈[1:1(体积比)], 内标浓度 20 mg/L]提取液中; 溶解后于冰水浴中超声 10 min, -20°C 静置 1 h, 离心 15 min (4°C 、12 000 r/min)后, 吸取上清液, 在真空浓缩器中进行干燥。再加入 160 μ L 提取液[乙腈:水=1:1 (体积比)], 涡旋 30 s 进行复溶, 将混合样品于冰水浴中超声 10 min, 在 4°C 、12 000 r/min 离心 15 min, 取 10 μ L 样品进行 LC-MS 分析(Want *et al.* 2010)。

1.3 液相条件

色谱柱: Acquity UPLC HSS T3 (1.8 μ m, 2.1 mm \times 100 mm); 流动相 A: 0.1%甲酸水溶液; 流动相 B: 0.1%甲酸乙腈; 洗脱梯度: B 相比比例为 2% (0 min), 增加到 98% (10 min), 并在 98% 比例维持 3 min, 13.00–13.10 min 比例降至 2%, 并以 2% 维持至 15 min; 流速 400 μ L/min, 进样量 4 μ L。

1.4 质谱条件

采用 Xevo G2-XS Qtof 高分辨质谱仪(Waters)对 UHPLC 分离后的样品进行分析。电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)技术参数参照陈灿等(2021)方法, 并做相应的修改。具体参数: 毛细管电压 2 500 V (正离子模式)或 $-2\ 000$ V (负离子模式); 锥孔电压 30 V; 离子源温度 100°C ; 脱溶剂气流速 800 L/h; 脱溶剂气温度 500°C ; 反吹气流速 50 L/h; 质核比 50–1 200 m/z。低碰

撞能量 2 V，高碰撞能量区间为 10–40 V，扫描频率为 0.2 s/谱。

1.5 数据处理和分析

依据检测数据，计算差异代谢产物的差异倍数，并使用 T 检验计算每个代谢产物的差异显著性值。使用 R 语言包 Ropls 进行 OPLA-DA 建模，并进行 200 次置换测试验证模型的可靠性。依据 OPLS-DA 模型的差异倍数和 P 值相结合的方法筛选显著差异代谢产物。筛选标准为上调代谢物 fold change≥1、下调代谢物 fold change<0.05，P value≤0.01，且 VIP>1。运用 clusterProfiler 超几何检验的方法对差异代谢物 KEGG 的注释结果进行富集分析(Yu *et al.* 2012)，并进行绘图。

2 结果与分析

2.1 主成分分析

通过主成分分析,可以了解各样本间的总体代谢差异和样本之间的变异度大小(陈美伴 2019; 汤伟华 2019; 沈雪峰等 2022)。UPLC-MS 分析得到的原始数据在 PC1、PC2 中很好地分离、呈现，分别为 48.77%，22.40% (图 1)，两者的贡献率之和为 71.17%，P10 和 P14 两个处理可明显区分开来。由样品的聚类热图(图 2)中也可以看出，P10 和 P14 区分明显，组内平行样本成分接近，进一步说明样本的可靠。

2.2 正交偏最小二乘法判别分析

为了能够更为准确地鉴别出具有差异的代谢产物，依据偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)对代谢组数据进一步开展相关分析,从模型评价指标 R2X、R2Y 和 Q2Y 来看，R2X=0.669，R2Y=0.992，Q2Y=0.889 (图 3)，R2Y 和 Q2Y 均接近于 1，说明模型构建良好。

OPLS-DA 置换检验见图 4，Q2Y 拟合回归线斜率为正,且置换后的 R2Y (蓝点)普遍位于置换后 Q2Y (红点)的上方，说明模型不存在过拟

合现象，具有较好的预测能力并有效可用(章智钧等 2020)。

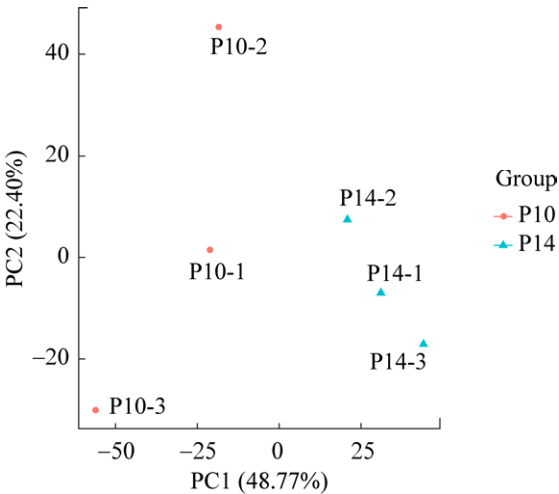


图 1 主成分分析图 P10：杂木屑栽培的瓦尼桑黄子实体；P14：桑枝屑栽培的瓦尼桑黄子实体。下同

Fig. 1 Principal component analysis diagram. P10: *Sanghuangporus vaninii* basidiomata cultivated with mixed sawdust; P14: *S. vaninii* basidiomata cultivated with mulberry sawdust. The same below.

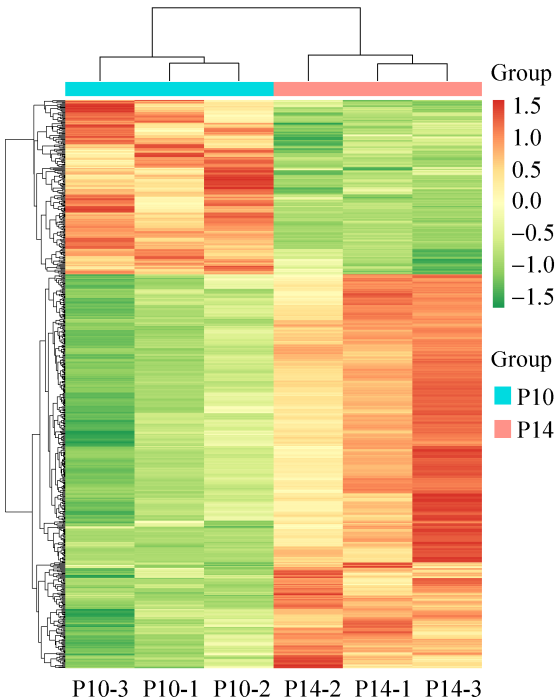


图 2 样品聚类热图

Fig. 2 Sample clustering heat map.

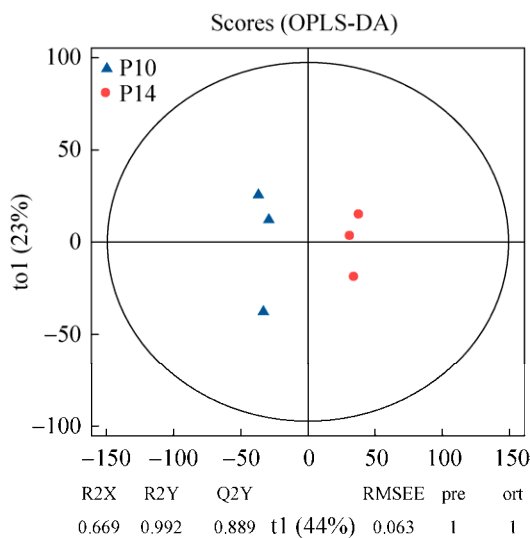


图3 代谢产物的正交偏最小二乘法判别分析
Fig. 3 Metabolite orthogonal partial least squares discriminant analysis.

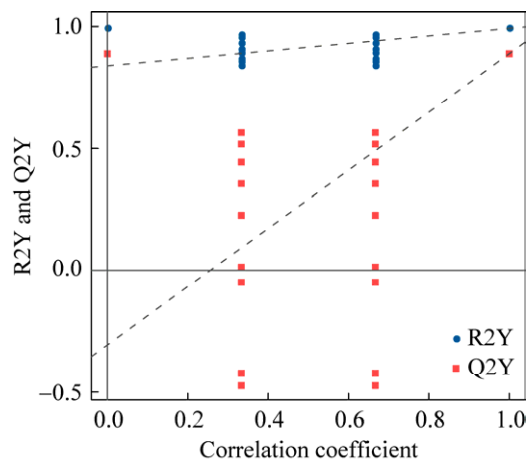


图4 OPLS-DA 置换检验
Fig. 4 OPLS-DA permutation test.

2.3 差异代谢物筛选

基于最小二乘判别分析结果,依据上调代谢物 fold change \geq 1、下调代谢物 fold change $<$ 0.5 和 VIP \geq 1、P value \leq 0.05 标准,筛选出差异显著的代谢物。在瓦尼桑黄子实体中共检测出 2 996 种代谢物,其中差异显著代谢物有 628 种, P14 样品中上调 435 种,下调 193 种,上调表达远大于下调表达(图 5),进一步表明桑枝屑的添加对瓦尼桑黄子实体中次级代谢产物的合成和积累具

有显著的促进作用,这与本团队前期的研究结果相符(宋吉玲等 2023)。差异代谢物共可分为 22 种类型,主要以脂质和类脂分子,氨基酸、多肽和蛋白质,有机杂环化合物,有机含氧化合物,苯丙素类和聚酮类,有机酸及其衍生物和核苷、核苷酸及其类似物等为主(表 1)。对所检测到的代谢物的差异倍数(fold change)进行 log 转换处理后,变化最为显著的有 20 个代谢物(图 6), P14 样品中 1 种核苷酸及其衍生物, 1 种含氮有机化合物、萜类、糖苷类、苯环型化合物、杂环化合物和其他, 2 种有机羟基化合物和 1 种有机酸及其衍生物的含量显著增加; P10 样品中的 2 种其他, 3 种氨基酸类, 3 种脂质, 1 种有机酸及其衍生物和 1 种苯丙素类和聚酮类含量显著增加。

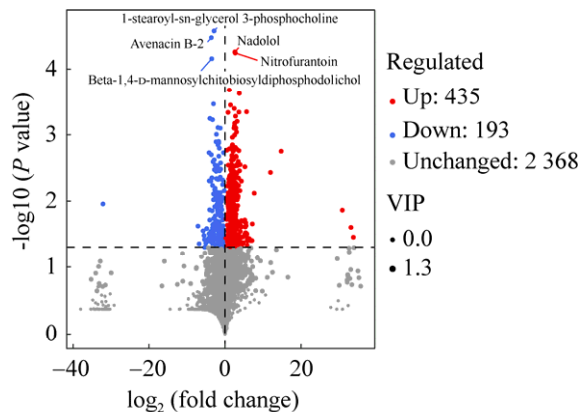


图5 差异代谢物火山图
Fig. 5 Differential metabolite volcano plot.

2.4 代谢通路分析

为进一步了解差异代谢产物所涉及的代谢通路,对筛选出的差异代谢物进行了 KEGG 显著性富集分析(宋吉玲等 2021)。本研究中,鉴定的差异代谢物共 628 个,在 KEGG 代谢通路中注释的有 151 个,涉及 79 条代谢通路。依据 P value 值大小(图 7),筛选出显著性富集的 20 条代谢通路,其中最为显著的 5 条代谢通路,分别为硫胺素代谢(ko00730, thiamine metabolism)、果糖

和甘露糖代谢(ko00051, fructose and mannose metabolism)、糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚生物合成[ko00563, glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesis]、磷酸戊糖途径(ko00030, pentose phosphate pathway) 和 嘧 啶 代 谢 (ko00240, pyrimidine metabolism)。

表 1 差异代谢物定性结果
Table 1 Qualitative results of differential metabolites

序号 No.	代谢物类别 Metabolite category	代谢物数量 Number of metabolites	上调数量 Increased number of metabolites	下调数量 Reduced number of metabolites
1	脂质和类脂分子 Lipids and lipid-like molecules	93	53	40
2	氨基酸、多肽和蛋白质 Amino acids, peptides, and proteins	87	58	29
3	有机杂环化合物 Organoheterocyclic compounds	81	64	17
4	有机含氧化合物 Organic oxygen compounds	68	51	17
5	苯环型化合物 Benzenoids	51	39	12
6	苯丙素类和聚酮类 Phenylpropanoids and polyketides	50	37	13
7	有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives	49	38	11
8	核苷、核苷酸和类似物 Nucleosides, nucleotides, and analogues	36	24	12
9	糖苷类 Glycosides	18	17	1
10	有机羟基化合物 Organic hydroxy compounds	10	7	3
11	萜类 Terpenoid	8	3	5
12	含氮有机化合物 Organic nitrogen compounds	7	2	5
13	有机磷化合物 Organophosphorus compounds	4	3	1
14	烃类 Hydrocarbons	3	0	3
15	生物碱和衍生物 Alkaloids and derivatives	2	0	2
16	维生素 Vitamins	2	1	1
17	胺类 Amines	2	2	0
18	木脂素、新木脂素及相关化合物 Lignans, neolignans and related compounds	1	0	1
19	混合金属/非金属化合物 Mixed metal/Non-metal compounds	1	1	0
20	色素 Pigments	1	1	0
21	醌类 Quinones	1	0	1
22	其他 Others	53	34	19

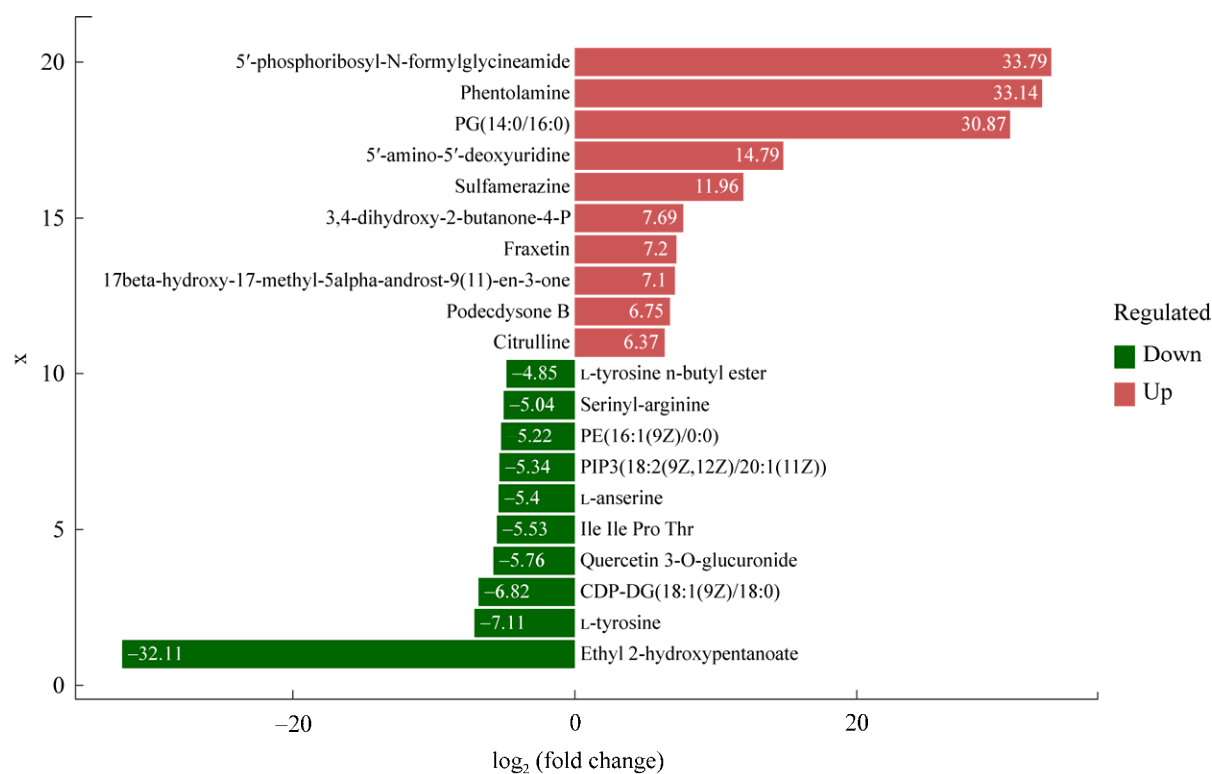


图 6 差异代谢物差异倍数柱状图
Fig. 6 Differential metabolite difference multiple histogram.

结合 DA Score 来看(图 8), 对每条通路途径中富集到的差异代谢物表达进一步分析, 在木屑和桑枝屑栽培的瓦尼桑黄子实体中硫胺素代谢、果糖和甘露糖代谢 2 个代谢通路富集到的差异代谢物的含量上调和下调的数目一致, 参与的差异代谢物多与有机含氧化合物、有机杂环化合物和氨基酸及其衍生物有关(图 9); 在桑枝屑栽培的瓦尼桑黄子实体中糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚生物合成、磷酸戊糖途径和嘧啶代谢 3 个代谢通路富集到的差异代谢物上调数目均高于下调, 参与的代谢物多与有机酸及其衍生物、核苷酸及其类似物和有机含氧化物有关(图 9)。磷酸戊糖途径作为葡萄糖氧化除三羧酸循环、糖酵解和柠檬酸循环外的另一主要途径, 在糖代谢中占据重要的作用, 为生物体合成提供还原力 NADPH、ATP 和核酸合成所需的戊糖的同时, 其代谢途径中的中间产物 D-核糖-5 磷酸和 1,5-磷酸核糖, 为合成更多的嘌呤核苷酸、嘧啶核苷酸和生糖或生酮

氨基酸及其衍生物提供了重要的前体物质。而嘧啶类化合物作为核酸的重要组成部分, 也是以糖代谢途径中的中间产物为合成前体, 这类化合物在抗菌和抗病毒等方面具有很好的生物活性, 临床上常常被用于治疗肿瘤和艾滋病等疾病(张海彬 2021)。硫胺素的主要生物活性形式为硫胺素焦磷脂(thiamine pyrophosphate, TPP), 其在添加桑枝屑处理中的含量呈极显著上升, 其作为 α -酮戊二酸脱氢酶复合体(α -ketoglutarate dehydrogenase complex, KGDHC)、磷酸戊糖途径的转酮醇酶(tran-sketolase, TK)和丙酮酸脱氢酶复合体(pyruvate dehydrogenase complex, PDHC)反应中的重要辅助因子(李文霞和柯尊记 2013), 在利用葡萄糖产生 ATP 和参与糖异生代谢方面发挥着重要的作用。因此, 通过本研究可以清楚地揭示, 桑枝屑的添加对促进桑黄子实体中次级代谢产物合成和积累方面具有较好的促进作用。

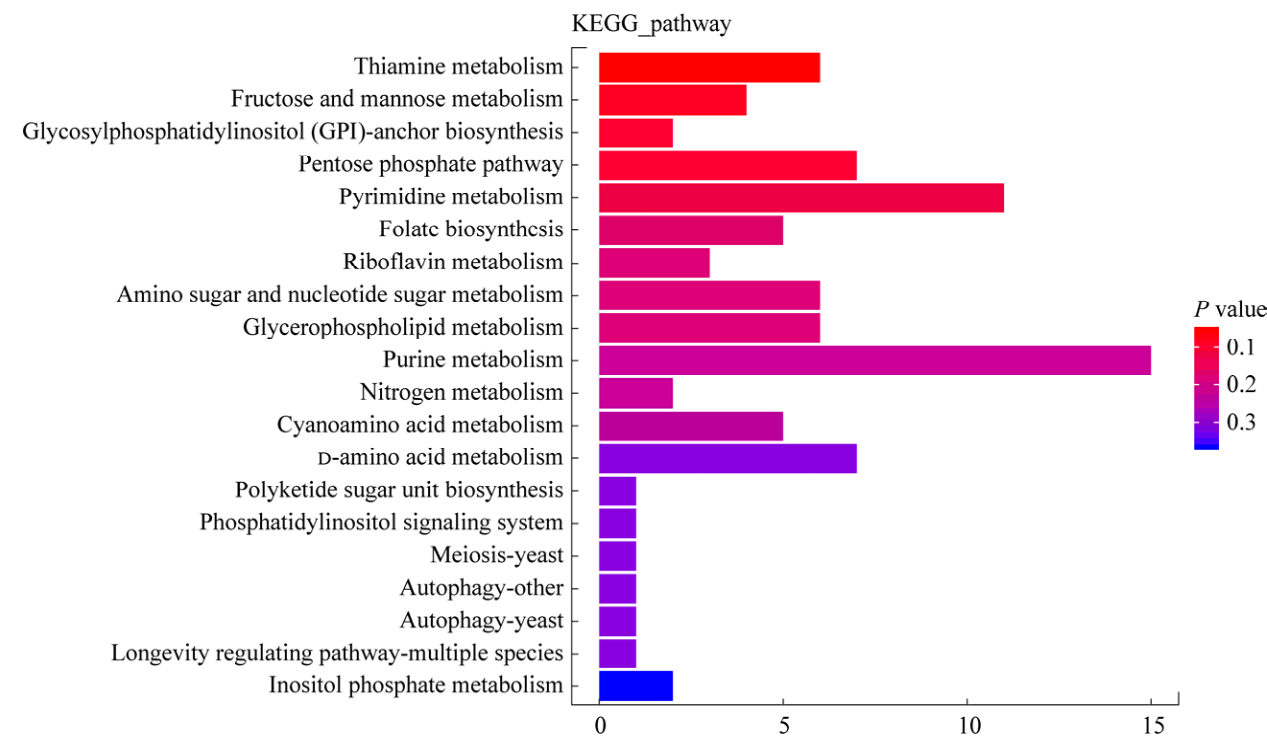


图 7 代谢通路富集分析图

Fig. 7 Enrichment analysis of differential metabolic pathways.

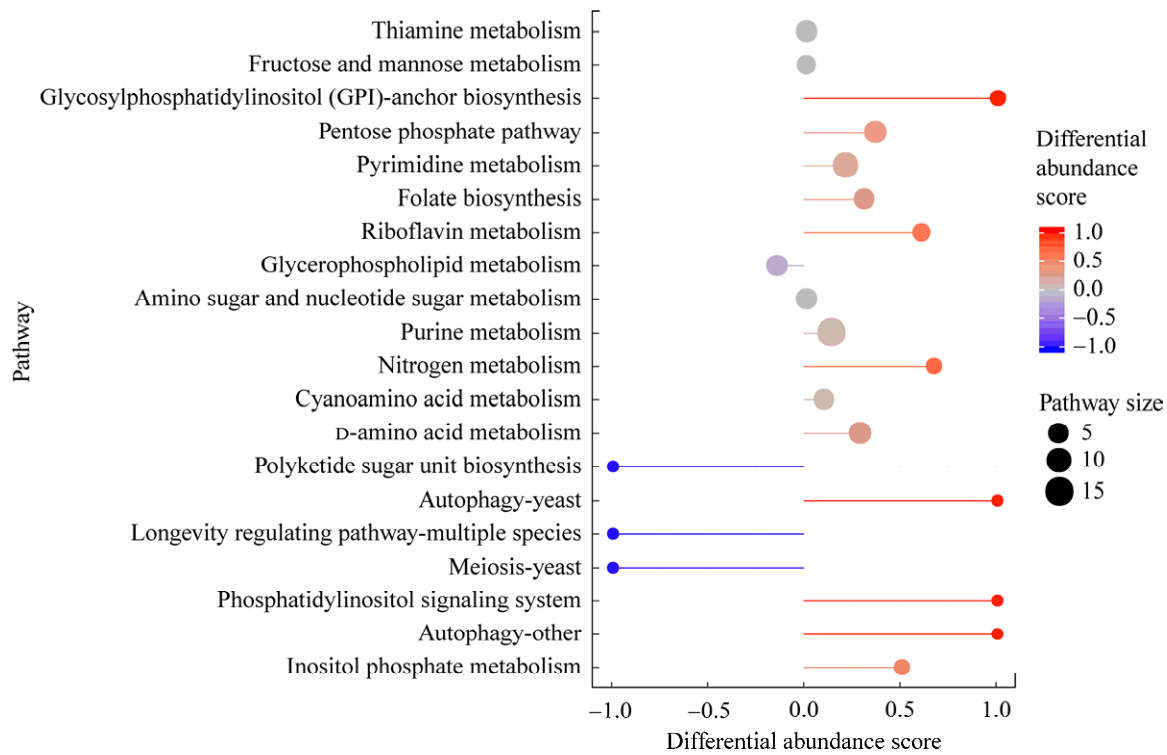


图 8 差异代谢物差异丰度得分图

Fig. 8 Differential metabolite differential abundance score plot.

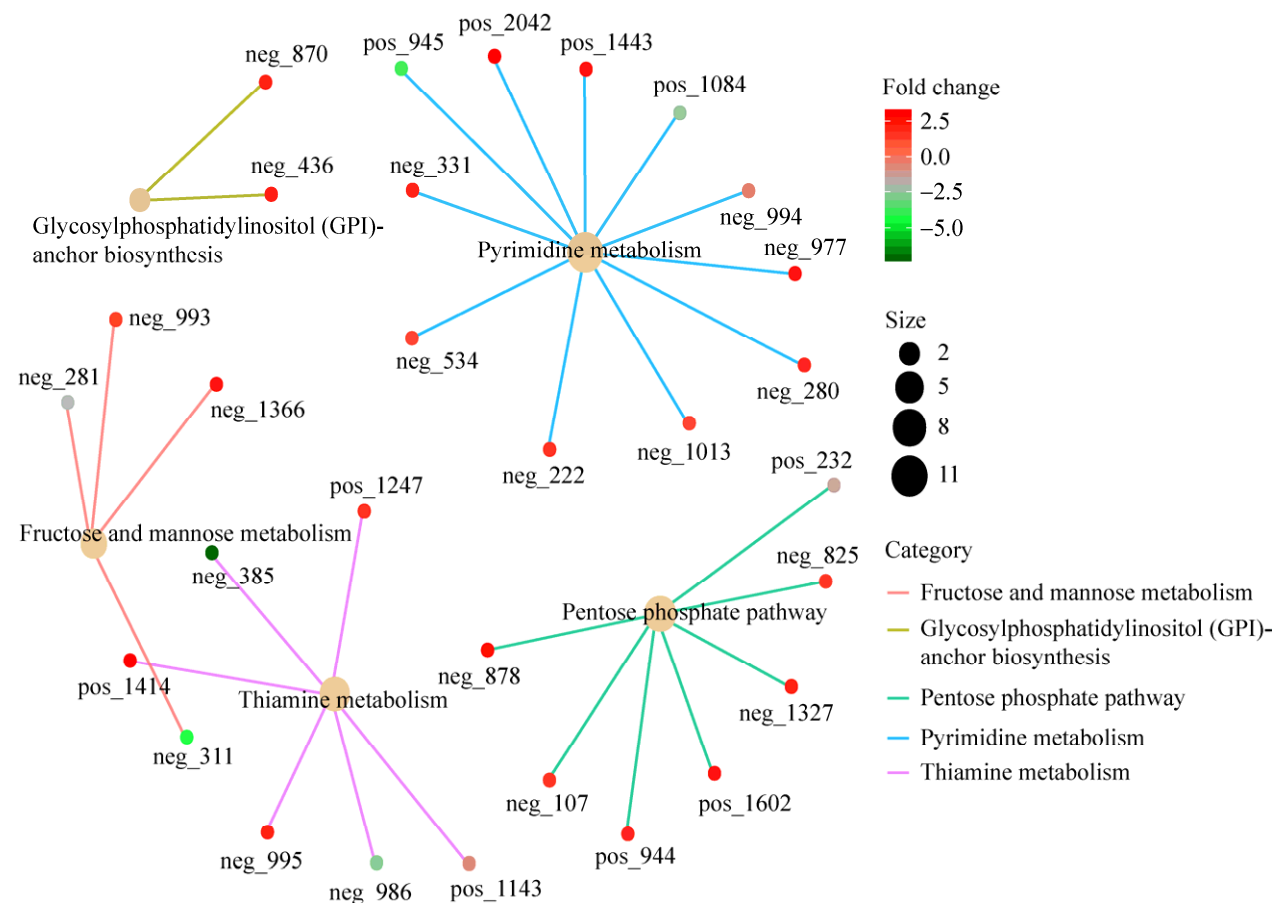


图 9 差异代谢物 KEGG 富集网络图 注释到代谢通路的具体代谢物，硫胺素代谢：pos_1247：一磷酸硫胺素；neg_385：L-酪氨酸；pos_1414：磷酸吡哆醛；neg_995：甘氨酸；neg_986：5-(2-羟乙基)-4-甲基噻唑；pos_1143：NAD. 果糖和甘露糖代谢：neg_281：山梨糖；neg_993：2-(α -D-甘露糖)-3-磷酸甘油酸酯；neg_1366：D-甘露醇-1-磷酸；neg_311：L-岩藻糖. 糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚生物合成：neg_870：1-磷脂酰-D-肌醇；neg_436：O-磷酸乙醇胺. 磷酸戊糖途径：neg_878：1,5-二磷酸核糖；neg_107：糠醛；pos_944：葡糖酸内酯；pos_1602：2-脱氢-D-葡萄糖酸；neg_1327：D-葡萄糖酸-1,5-内酯；neg_825： β -D-葡萄糖-6-磷酸；pos_232：2-脱氧核糖. 嘧啶代谢：pos_2042：L-氢化乳清酸；pos_1443：尿嘧啶；pos_1084：尿苷；neg_994：dUDP；neg_977：L-谷氨酰胺；neg_280：甲基丙二酸；neg_1013：尿嘧啶核苷酸；neg_222：dUMP；neg_534：假尿苷三磷酸；neg_331：脱氧尿苷；pos_945：乳清酸核苷酸

Fig. 9 KEGG enrichment network diagram of differential metabolites. Specific metabolites annotated to metabolic pathways. Thiamine metabolism: pos_1247: Thiamine monophosphate; neg_385: L-tyrosine; pos_1414: Pyridoxal 5'-phosphate; neg_995: Glycine; neg_986: 5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazole; pos_1143: NAD. Fructose and mannose metabolism: neg_281: L-sorbose; neg_993: 2-(α -D-mannosyl)-3-phosphoglycerate; neg_1366: D-mannitol 1-phosphate; neg_311: L-fucose. Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesis: neg_870: Phosphatidyl-D-inositol; neg_436: O-phosphoethanolamine. Pentose phosphate pathway: neg_878: Ribose 1,5-bisphosphate; neg_107: Furfural; pos_944: Gluconolactone; pos_1602: 2-dehydro-D-gluconate; neg_1327: D-glucono-1,5-lactone; neg_825: Beta-D-glucose 6-phosphate; pos_232: 2-deoxy-D-Ribose. Pyrimidine metabolism: pos_2042: L-dihydroorotate; pos_1443: Uracil; pos_1084: Uridine; neg_994: dUDP; neg_977: L-glutamine; neg_280: Methylmalonic acid; neg_1013: Uridine 5'-monophosphate; neg_222: dUMP; neg_534: Pseudouridine 5'-phosphate; neg_331: Deoxyuridine; pos_945: Orotidylic acid.

3 讨论

代谢物是生物体表型的基础,基于对代谢物的定性定量分析,能帮助更直观有效地了解生物代谢过程及其机理(陈美伴 2019; 汤伟华 2019; 封富 2020)。代谢组学通过对生物体代谢产物的鉴定与分析,解析其代谢途径和代谢网络。主要应用在生物体的代谢组学表型现象(田发益等 2020; 唐玉情等 2023),不同疾病和不同环境刺激后代谢产物的应答机制(陈林等 2022; 何淑雯等 2022; 魏艳平等 2022),以及药物、食品安全评价方面(白璐等 2015; 郭思凡等 2022)。

本研究采用广泛非靶向代谢组学技术,在以桑枝为主要基质栽培的瓦尼桑黄子实体中共检测出 2 996 种代谢产物,其中差异代谢物有 628 种,主要包含苯环型化合物、有机杂环化合物、有机酸及其衍生物、脂质和类脂分子、核苷酸及其衍生物、苯丙素类和聚酮类等次级代谢产物。与传统木屑配方相比,桑枝屑的添加在代谢途径调节方面起着至关重要的作用,主要涉及硫胺素(维生素 B1)代谢、果糖和甘露糖代谢、糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚生物合成、磷酸戊糖途径、嘧啶代谢和嘌呤代谢等,其中以糖代谢较为集中,这可能是与桑枝屑的添加可有效促进子实体中多糖含量的累积有很大关联(徐建俊等 2016; 胡桂萍等 2022; 宋吉玲等 2023)。其中有 7 个代谢产物与磷酸戊糖途径相关,为生物体内多种代谢提供能量来源的同时,也是其他代谢产物的前体,具有多种多样的生理生化和药理功能。嘧啶类化合物作为核酸的重要组成部分,也是以糖代谢途径中的中间产物为合成前体,在抗菌和抗病毒方面具有很好的生物活性,在临床上常常被用于治疗肿瘤和艾滋病等疾病(张海彬 2021)。而硫胺素作为参与生物体内糖及能量代谢的重要维生素之一,在脂质过氧化产物和谷胱甘肽还原酶活性方面也发挥重要作用,也是维持神经、

心脏及消化系统正常机能的一类重要生物活性物质(向仁伸等 2020)。本研究清楚地揭示了桑枝屑的添加能够显著促进次级代谢产物的合成,这为瓦尼桑黄质量评价、药用价值开发提供了重要信息,同时为瓦尼桑黄的高效栽培技术奠定了良好的基础。

[REFERENCES]

- Bai L, Xu XS, Zhang FS, Peng B, Zeng ZP, Tian HL, Qin XM, 2015. UPLC/Q-TOF MS-based metabolomics analysis of chemical differences in different *Polygala tenuifolia* varieties. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 38(9): 1819-1824 (in Chinese)
- Chen C, Zhang ZQ, Xia XZ, Yang XH, Nong BX, Zhang XL, Xu ZJ, Li DT, Guo H, Feng R, 2021. Metabolomics reveals potential biomarkers of rice gall midge (*Orseolia oryzae*) interactions. *Journal of Southern Agriculture*, 52(10): 2662-2670 (in Chinese)
- Chen L, Wang M, Hu Y, Liu YP, Chen HP, Wang F, 2022. Differential analysis of secondary metabolites of medicinal and edible polygonati rhizoma and study on potential active components and mechanism for improving insulin resistance. *Natural Product Research and Development*, 34(9): 1582-1596 (in Chinese)
- Chen MB, 2019. Study on anthocyanin pathway of tea tree flower based on metabolome and transcriptome. Master Thesis, South China Agricultural University, Guangzhou. 6-12 (in Chinese)
- Cheng JW, Song JL, Wei HL, Wang YB, Huang XB, Liu Y, Lu N, He L, Lv GY, Ding HM, Yang SZ, Zhang ZF, 2020. Structural characterization and hypoglycemic activity of an intracellular polysaccharide from *Sanghuangporus sanghuang* mycelia. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164: 3305-3314
- Chu WQ, Wu D, Chen WC, Li ZP, Zhang Z, Yang Y, 2023. Correlation between composition characteristics and activities of graded ethanol precipitation derived crude polysaccharides of *Sanghuangporus vaninii* basidiomata cultivated on artificial substrate prepared from mulberry sawdust. *Mycosystema*, 42(4): 984-996 (in Chinese)
- Dai YC, 2003. The new knowledge on the medicinal fungus-*Phellinus baumii*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 34: 94-95 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, Cui BK, Yu CJ, Zhou LW, 2009. Species diversity and utilization of medicinal mushrooms and fungi in China. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 11: 287-302

- Feng F, 2020. Metabonomics analysis on the difference of drought resistance in seedling of winter wheat variety. Master Thesis, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing. 1-64 (in Chinese)
- Gao WW, Zhang N, Yu SW, 2014. Research progress on antitumor effects and mechanisms of *Phellinus*. China Journal of Chinese Materia Medica, 39(21): 4165-4168 (in Chinese)
- Guo SF, Cai Y, Zhang AH, 2022. Research advance in efficacy evaluation, active substances and action mechanism of traditional Chinese medicine based on metabonomics. Drug Evaluation Research, 45(11): 2338-2346 (in Chinese)
- He SW, Hu HJ, Lu XQ, Wang HD, Wang HH, Xu XL, 2022. Effect of sRNA SaaS on adhesion response and extracellular metabolites of *Salmonella*. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 36(1): 121-128 (in Chinese)
- Hou YH, Ma JC, Li N, 2022. Effects of different origins, cultivation pattern, substrates on content of main components and *in vitro* antitumor activity of Sanghuang mushroom. Journal of Chinese Medicinal Materials, 45(3): 536-541 (in Chinese)
- Hu GP, Hu LC, Cao HM, Wang F, Cai X, Ye C, 2022. Effect of substitute cultivation with mulberry sawdust on the growth and nutrient composition of *Stropharia rugosoannulata*. Edible Fungi of China, 41(11): 35-39 (in Chinese)
- Huang SC, Wang PW, Kuo PC, Hung HY, Pan TL, 2018. Hepatoprotective principles and other chemical constituents from the mycelium of *Phellinus linteus*. Molecules, 23: 1705
- Jiang FC, Zhang HN, Wu D, Feng N, Zhang Z, Zhang JS, Feng J, Yang Y, 2018. Kinetic models for the effect of temperature on flavonoid production in liquid submerged fermentation by *Phellinus baumii*. Biotechnology and Applied Biochemistry, 65: 739-747
- Lee S, Lee D, Jang TS, Kang KS, Nam JW, Lee HJ, Ki HK, 2017. Anti-inflammatory phenolic metabolites from the edible fungus *Phellinus baumii* in LPS-Stimulated RAW264.7 cells. Molecules, 22(10): 1583
- Li WX, Ke ZJ, 2013. Thiamine deficiency and alzheimer's disease. Chinese Bulletin of Life Sciences, 25(2): 184-190 (in Chinese)
- Li XH, Xie YJ, Wang H, Li JC, Liu JZ, Hu LM, Wang SM, 2021. Comparison of chemical constituents and antioxidant activities of *Sanghuangporus vaninii* in different substrates. Journal of Food Safety and Quality, 12(23): 9183-9188 (in Chinese)
- Liu MH, Zeng JH, 2023. Chemical components of *Phellinus* and antitumor mechanism: a review. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 29(8): 275-282 (in Chinese)
- Lü GY, Song TT, Cai WM, Zhang ZF, 2021. Comparative study of chemical components and antioxidant activities of wild *Sanghuangporus sanghuang* and *Sanghuangporus vaninii*. Mycosystema, 40(7): 1833-1843 (in Chinese)
- Shan L, Liu ZN, Ci LL, Shuai C, Lü XW, Li J, 2019. Research progress on the anti-hepatic fibrosis action and mechanism of natural products. International Immunopharmacology, 75: 10576
- Shen XF, Lu WT, Chen Y, 2022. Aluminum stress on root metabolism of peanut based on metabolomics of UPLC-MS/MS. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 44(4): 833-844 (in Chinese)
- Shi ZT, Bao HY, 2016. Research progress on effective components and efficacy of *Phellinus igniarius*. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 22(22): 197-202 (in Chinese)
- Song JL, Lu N, Yan J, Cheng JW, Zhou ZF, Lin JY, Wang WK, Yuan WD, 2023. Effects of mulberry sawdust on the content of main active components and antioxidant activities in *Sanghuangporus vainii*. Mycosystema, 42(4): 949-960 (in Chinese)
- Song JL, Wang WK, Yan J, Lu N, Zhou ZF, Yuan WD, 2022. Antioxidant substances and activity of medicinal fungus *Sanghuangporus*. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 50(3): 144-154 (in Chinese)
- Song JL, Yuan WD, Zhou ZF, Wang WK, Lu N, Cheng JW, Yan J, 2020. Activities of extracellular enzymes and polysaccharides in liquid culture of *Sanghuangporus*. Mycosystema, 39(2): 352-361 (in Chinese)
- Song JL, Zhou ZF, Yan J, Lu N, Cheng JW, Yuan WD, Wang WK, 2021. Study of effects of bran on the metabolism of *Sanghuangporus vaninii* based on metabolomics of UPLC-MS/MS. Mycosystema, 40(3): 641-655 (in Chinese)
- Tang WH, 2019. Decolorization of disperse red 3B by consortium of the *Chlorella sorokiniana* XJK and the fungus *Aspergillus* sp. XJ-2. Master Thesis, Shihezi University, Shihezi. 1-80 (in Chinese)
- Tang YQ, Zhang J, Liu Y, Wu KX, Yan X, Tang ZH, 2023. GC-MS metabolomics analysis of *Acer rubrum* during autumn leaf coloration. Journal of Northeast Forestry University, 51(2): 70-76 (in Chinese)
- Tian FY, Liu GF, Wu JX, 2020. Exploration on metabolic characteristics of pengbo semi-wool sheep under the condition of grazing and barn feeding based on non-targeted metabonomics. Chinese Journal of

- Veterinary Science, 40(9): 1854-1863 (in Chinese)
- Wang FF, Shi C, Yang Y, Fang Y, Sheng L, Li N, 2018. Medicinal mushroom *Phellinus igniarius* induced cell apoptosis in gastric cancer SGC-7901 through a mitochondria-dependent pathway. Biomedicine & Pharmacotherapy, 102: 18-25
- Wang H, Qian K, Si J, Cui BK, 2021. Research advances on polysaccharides from sanghuang. Mycosystema, 40(4): 895-911 (in Chinese)
- Want EJ, Wilson ID, Gika H, Theodoridis G, Plumb RS, Shockcor J, Holmes E, Nicholins JK, 2010. Global metabolic profiling procedures for urine using UPLC-MS. Nature Protocols, 5(6): 1005-1018
- Wei YP, Li YL, Xia MY, Chen W, Wei XT, Wang J, Lü YH, Zu XP, Feng Y, 2022. Applications of metabolomics in development of discovering biomarkers of breast cancer. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 42(6): 988-999 (in Chinese)
- Wen Y, Wan YZ, Qiao CX, Xu XF, Wang J, Shen Y, 2019. Immunoregenerative effects of the bionically cultured sanghuang mushrooms (*Inonotus sanghuang*) on the immunodeficient mice. Journal of Ethnopharmacology, 245: 112047
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. Fungal Diversity, 98: 1-76
- Wu SH, Dai YC, 2020. Species clarification of the medicinal fungus sanghuang. Mycosystema, 39(5): 781-794 (in Chinese)
- Xiang RS, Guo WY, Fu T, 2020. Research progress and prospects of thiamine deficiency and various systemic diseases of human body. Medical Journal of Wuhan University, 41(2): 332-336 (in Chinese)
- Xu JJ, Li B, Sun CQ, Li S, Zhao H, Jing Y, 2016. Comparison of mulberry sawdust and wood sawdust on quality of *Lentinula edodes*. Northern Horticulture, 2016(3): 134-137 (in Chinese)
- Yang Y, Ji J, Di LQ, Li JS, Hu LH, Qiao HZ, Wang LC, Feng YB, 2020. Resource, chemical structure and activity of natural polysaccharides against alcoholic liver damages. Carbohydrate Polymers, 241: 116355
- Yeo WH, Hwang EI, So SH, Lee SM, 2007. Phellinone, a new furanone derivative from the *Phellinus linteus* KT&G PL-2. Archives of Pharmacal Research, 30(8): 924-926
- Yi Y, Xu W, Wang HX, Huang F, Wang LM, 2020. Natural polysaccharides experience physiochemical and functional changes during preparation: a review. Carbohydrate Polymers, 234: 115896
- Yu GC, Wang LG, Han YY, He QY, 2012. ClusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. Omics: A Journal of Integrative Biology, 16(5): 284-287
- Zhang HB, 2021. Research progress of pyrimidine metabolism in microbes. Biotechnology, 31(6): 619-624, 566 (in Chinese)
- Zhang ZJ, Liu HF, Sun JL, Zhao BL, Pan LZ, He W, Liu JJ, 2020. Analysis of differential metabolites in cabernet sauvignon skins from different rootstock-scion combinations by non-targeted metabolomics. Food Science, 41(24): 22-30 (in Chinese)
- Zhou LW, Vlasak J, Decock C, Assefa A, Stenlid J, Abate D, Wu SH, Dai YC, 2016. Global diversity and taxonomy of the *Inonotus linteus* complex (Hymenochaetales, Basidiomycota): *Sanghuangporus* gen. nov., *Tropicoporus excentrodendri* and *T. guanacastensis* gen. et spp. nov., and 17 new combinations. Fungal Diversity, 77(1): 335-347

[附中文参考文献]

- 白璐, 许晓双, 张福生, 彭冰, 曾祖平, 田洪岭, 秦雪梅, 2015. 基于 UPLC/Q-TOF MS 代谢组学技术研究远志不同品种间的化学差异性. 中药材, 38(9): 1819-1824
- 陈灿, 张宗琼, 夏秀忠, 杨行海, 农保选, 张晓丽, 徐志健, 李丹婷, 郭辉, 冯锐, 2021. 代谢组学揭示水稻——稻瘿蚊互作的潜在生化标识物. 南方农业学报, 52(10): 2662-2670
- 陈林, 王敏, 胡媛, 刘友平, 陈鸿平, 王福, 2022. 药用与食用黄精次生代谢产物差异分析及改善胰岛素抵抗的活性成分与作用机制研究. 天然产物研究与开发, 34(9): 1582-1596
- 陈美伴, 2019. 代谢组与转录组分析形成茶树花花色差异的分子机制研究. 华南农业大学硕士论文, 广州. 6-12
- 楚文琪, 吴迪, 陈万超, 李正鹏, 张忠, 杨焱, 2023. 桑树木屑栽培的瓦尼桑黄子实体分级醇沉粗多糖组成特征与活性相关性. 菌物学报, 42(4): 984-996
- 戴玉成, 2003. 药用担子菌——鲍氏层孔菌(桑黄)的新认识. 中草药, 34: 94-95
- 封富, 2020. 冬小麦品种幼苗抗旱性差异的代谢组学分析. 中国农业科学院硕士论文, 北京. 1-64
- 高雯雯, 张娜, 俞淑文, 2014. 桑黄抗肿瘤及其作用机制的研究进展. 中国中药杂志, 39(21): 4165-4168
- 郭思凡, 蔡莹, 张爱华, 2022. 基于代谢组学的中药药效评价、药效物质发现及作用机制研究进展. 药物评价研究, 45(11): 2338-2346
- 何淑雯, 胡海静, 陆许秋, 王浩东, 王虎虎, 徐幸莲, 2022. sRNA SaaS 对沙门氏菌粘附响应规律和胞外代谢物的影响效应. 核农学报, 36(1): 121-128
- 侯玉浩, 马军成, 李宁, 2022. 不同基原、栽培模式、栽培基质对桑黄药材主要成分含量和体外抗肿瘤活性的

- 影响. 中药材, 45(3): 536-541
- 胡桂萍, 胡丽春, 曹红妹, 王丰, 蔡翔, 叶川, 2022. 桑枝屑代料栽培对大球盖菇生长及营养成分的影响. 中国食用菌, 41(11): 35-39
- 李文霞, 柯尊记, 2013. 维生素 B1 缺乏与老年性痴呆. 生命科学, 25(2): 184-190
- 李小欢, 谢远娇, 王欢, 李敬超, 刘俊泽, 胡力铭, 王淑敏, 2021. 不同栽培基质桑黄化学成分及抗氧化活性比较. 食品安全质量检测学报, 12(23): 9183-9188
- 刘漠浩, 曾建红, 2023. 桑黄化学成分及其抗肿瘤作用机制研究进展. 中国实验方剂学杂志, 29(8): 275-282
- 吕国英, 宋婷婷, 蔡为明, 张作法, 2021. 野生桑树桑黄和杨树桑黄化学成分及抗氧化活性比较. 菌物学报, 40(7): 1833-1843
- 沈雪峰, 卢文涛, 陈勇, 2022. 基于 UPLC-MS/MS 技术的代谢组学方法研究铝胁迫下花生的根系代谢. 中国油料作物学报, 44(4): 833-844
- 史帧婷, 包海鹰, 2016. 桑黄类真菌有效成分及功效研究进展. 中国实验方剂学杂志, 22(22): 197-202
- 宋吉玲, 陆娜, 闫静, 程俊文, 周祖法, 林佳瑶, 王伟科, 袁卫东, 2023. 桑枝屑对瓦尼桑黄主要活性成分含量和体外抗氧化活性的影响. 菌物学报, 42(4): 949-960
- 宋吉玲, 王伟科, 闫静, 陆娜, 周祖法, 袁卫东, 2022. 药用真菌桑黄抗氧化物质及其活性研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 50(3): 144-154
- 宋吉玲, 袁卫东, 周祖法, 王伟科, 陆娜, 程俊文, 闫静, 2020. 桑黄菌液体培养过程中酶活及多糖含量变化规律. 菌物学报, 39(2): 352-361
- 宋吉玲, 周祖法, 闫静, 陆娜, 程俊文, 袁卫东, 王伟科, 2021. 基于 UPLC-MS/MS 技术的代谢组学方法研究麸皮对杨树桑黄代谢的影响. 菌物学报, 40(3): 641-655
- 汤伟华, 2019. 小球藻 *Chlorella sorokiniana* XJK 与曲霉 *Aspergillus* sp. XJ-2 聚生体系对分散红 3B 的脱色研究. 石河子大学硕士论文, 石河子. 1-80
- 唐玉情, 张捷, 刘洋, 吴可心, 闫雪, 唐中华, 2023. 北美红枫秋色叶呈色过程中 GC-MS 代谢组学分析. 东北林业大学学报, 51(2): 70-76
- 田发益, 刘贵芳, 武俊喜, 2020. 基于非靶向代谢组学分析放牧与舍饲条件下彭波半细毛羊代谢特征. 中国兽医学报, 40(9): 1854-1863
- 王豪, 钱坤, 司静, 崔宝凯, 2021. 桑黄类真菌多糖研究进展. 菌物学报, 40(4): 895-911
- 魏艳平, 李艳灵, 夏梦瑶, 陈威, 隗鑫瞳, 王杰, 吕燕慧, 祖先鹏, 冯玉, 2022. 代谢组学在乳腺癌生物标志物中的应用进展. 药物分析杂志, 42(6): 988-999
- 吴声华, 戴玉成, 2020. 药用真菌桑黄的种类解析. 菌物学报, 39(5): 781-794
- 向仁仲, 郭闻一, 付涛, 2020. 硫胺素缺乏症与各系统疾病的研究进展与展望. 武汉大学学报(医学版), 41(2): 332-336
- 徐建俊, 李彪, 孙传齐, 李松, 赵辉, 敬勇, 2016. 桑枝屑香菇与杂木屑香菇的品质比较. 北方园艺, 2016(3): 134-137
- 张海彬, 2021. 微生物中嘧啶代谢途径的研究进展. 生物技术, 31(6): 619-624, 566
- 章智钧, 刘怀锋, 孙军利, 赵宝龙, 潘立忠, 何旺, 刘晶晶, 2020. 非靶向代谢组学对赤霞珠果皮不同砧穗组合差异代谢物的分析. 食品科学, 41(24): 22-30