

糙皮侧耳原基发育关联物质及代谢通路分析

刘芹¹, 孔维丽¹, 崔筱¹, 牛森园², 师子文³, 吴杰³, 梁雪迪³, 刘阳²

(1. 河南省农业科学院食用菌研究所·农业农村部黄淮海地区食用菌种质资源鉴定和利用重点实验室 郑州 450002; 2. 河南科技学院生命科学院 河南新乡 453003; 3. 河南农业大学生命科学学院 郑州 450002)

摘要: 为揭示糙皮侧耳原基发育的潜在调控物质, 采用代谢组学的方法对糙皮侧耳菌丝体和原基细胞代谢物进行检测分析。结果表明, 菌丝体与原基细胞的代谢物具有显著差异。采用正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA), 以VIP(variable importance in the projection)≥1 和倍数变化≥2 或≤0.5 为条件共筛选到 400 种差异代谢物。调控通路分析表明, 这些差异物质涉及 33 条代谢通路, 其中丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸、氨酰 tRNA 生物合成、嘌呤代谢等 8 条代谢通路具有极显著影响。谷氨酸和谷氨酰胺涉及 $p < 0.01$ 的大部分代谢通路, 可能在糙皮侧耳原基发育过程中具有重要调控作用。研究结果为糙皮侧耳以及其他大型真菌原基发育机制的探索提供了理论依据。

关键词: 糙皮侧耳; 原基发育; 代谢组学; 差异代谢物; 代谢通路

中图分类号: S646.1'41

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2024)06-052-09

Analysis of associated substances and metabolic pathways involved in primordium development of *Pleurotus ostreatus*

LIU Qin¹, KONG Weili¹, CUI Xiao¹, NIU Senyuan², SHI Ziwen³, WU Jie³, LIANG Xuedi³, LIU Yang²

(1. Institute of Edible Fungi, Henan Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Evaluation and Utilization of Edible Fungi Germplasm Resources in Huang-Huai-Hai Region, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou 450002, Henan, China; 2. College of Life Science and Technology, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, Henan, China; 3. College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, Henan, China)

Abstract: In order to reveal the potential regulatory substances involved in primordium development of *Pleurotus ostreatus*, the metabolomics was used to detect the cellular metabolites in mycelium and primordium. The results showed that there were significant differences between the cellular metabolites in mycelium and primordium. A total of 400 differential metabolites were screened under the condition of VIP (variable importance in the projection) ≥ 1 and fold change ≥ 2 or ≤ 0.5 using orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA). According to pathway analysis, these differential substances might involve 33 metabolic pathways, among which 8 metabolic pathways, including alanine, aspartate and glutamate, aminoacyl tRNA biosynthesis and purine metabolism, had extremely significant effects. Glutamate and glutamine involved in most of the metabolic pathways with $p < 0.01$, therefore they might play an important regulatory role in primordium development of *P. ostreatus*. This study provides a theoretical basis for exploring the development mechanism of *P. ostreatus* and other macrofungus.

Key words: *Pleurotus ostreatus*; Primordium development; Metabolomics; Differential metabolite; Metabolic pathways

大型真菌因其独特的香气、风味、质地和药用特性而广受消费者喜爱^[1]。目前, 世界上可食用的大型真菌有近 2000 种, 因为称之为食用菌, 其中有不少于 35 种已经实现在全球范围内大规模种植^[2]。糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*) 是世界上最广泛种植和消费的食用菌之一, 具有栽培技术简单、栽培原料来源广泛的优点^[3]。糙皮侧耳可将农业废

弃物转化为高营养价值的食品, 能有效提高种植者的收益^[4]。此外, 糙皮侧耳含有大量的多糖(β -葡聚糖)、膳食纤维、不饱和脂肪酸、多肽、糖蛋白和抗氧化化合物, 也是钠、钾、钙、镁、磷等矿物质和维生素的重要来源^[5]。研究表明, 糙皮侧耳还具有显著的抗病毒、抗菌、抗氧化、抗炎及免疫调节等活性, 深受消费者青睐^[6-8]。

收稿日期: 2024-01-30; 修回日期: 2024-02-23

基金项目: 河南省现代农业产业技术体系(HARS-22-08-S, HARS-22-08G1)

作者简介: 刘芹, 女, 副研究员, 主要从事食用菌生理研究。E-mail: liuqin_bio@hotmail.com

通信作者: 孔维丽, 女, 研究员, 主要从事食用菌育种研究。E-mail: kongweili2005@126.com

糙皮侧耳的生长发育一般分为两个阶段:第一阶段为营养生长阶段,从接种直至菌丝生理成熟;第二阶段为生殖生长阶段,即子实体发生和发育阶段,从原基形成到子实体成熟^[9]。食用菌原基发生是子实体形成和产量效益的前提和基础,目前对食用菌的研究主要集中在营养生理、风味物质以及功能物质方面,对原基发生和发育的研究非常有限^[9-11]。陈鹏至等^[12]研究表明,富马酸、琥珀酸、6-磷酸葡萄糖酸、甜菜碱等13种仅在原基中检测到的小分子物质可能对亚洲兰茂牛肝菌(*Lanmaoa asiatica*)原基的发育具有至关重要的作用。杨晓敏等^[13]采用核磁共振、气相质谱和液相质谱3种检测技术对亚洲兰茂牛肝菌的菌丝体及原基的小分子物质进行比较分析,推测谷氨酸在原基发育中起着重要的调控作用。李玉等^[14]研究表明,茉莉酸甲酯可促进金针菇原基的形成。

代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后迅速发展起来的一门新学科^[15],旨在检测特定条件下有机体或细胞内内源性代谢物的整体轨迹,以反映生物体的病理或生理过程,而检测到的一些差异代谢物已成为表征生物体病理或生理状态的潜在标记物^[16]。代谢组学已广泛应用于疾病诊断、药物开发、微生物代谢、动植物代谢等多个领域^[17-19]。近年来,代谢组学技术逐渐应用于食用菌领域,研究食用菌在特定环境条件下的代谢机制。Zhao等^[20]基于GC-MS非靶向和靶向代谢组分析鉴定了高温胁迫下香菇菌丝代谢组的变化。Du等^[17]采用代谢组学技术分析了白灵菇菌丝生理成熟期第0天、第35天(17℃)和第35天(29℃)菌丝细胞外代谢物的差异,确定了CA-asp可作为菌丝生理成熟的标志物。Qiu等^[21]利用GC-MS和LC-MS分析了高温条件下*P. ostreatus*菌丝体胞外代谢物的变化,并研究了外源添加一些显著增加的代谢物对曲霉和木霉生长的影响,以确定*P. ostreatus*容易被*Trichoderma asperellum*感染的原因。这些研究为利用代谢组学方法探索糙皮侧耳原基发育过程中的代谢谱提供了指导。笔者研究团队前期较为系统全面地阐明了糙皮侧耳原基和子实体之间以及子实体发育过程中菌丝体中代谢物的差异^[22-23],但关于糙皮侧耳菌丝如何扭结形成原基的机制尚不明确。因此,笔者采用代谢组学的方法比较糙皮侧耳原基发育期菌丝体和原基中代谢产物的差异,并分析相关调控通路,旨在解析糙皮侧耳原基发育的重要调控物质,从而为改进糙皮侧耳栽

培方法以及最大限度地提高产量和质量提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

豫黑平16(CNA20191002079)保存于河南省食用菌种质资源库。

1.2 方法

栽培试验于2022年2-5月在河南省农业科学院现代农业试验示范基地进行。糙皮侧耳栽培采用18 cm × 36 cm × 0.05 cm聚丙烯袋,配方为棉籽壳88%、10%麸皮、石灰1%。接种后第35天,收集同一栽培袋的菌丝体(M组)和刚形成的原基(P组)。样品收集和检测参考刘芹等^[22]的方法。

1.3 数据分析

采用Analyst 1.6.1软件(AB SCIEX, Ontario, Canada)进行代谢物数据分析。2组样本间代谢物的差异分析采用主成分分析(Principal component analysis, PCA)和多变量监督方法偏最小二乘判别分析(Orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)。VIP(variable importance in the projection) ≥ 1、倍数变化 ≥ 2 或 ≤ 0.5 的代谢物作为差异代谢物进行组间区分^[24]。差异代谢物的代谢通路分析在MetaboAnalyst 5.0平台(<https://www.metaboanalyst.ca>)上进行。采用R语言绘制热图和气泡图,采用Gephi软件绘制代谢通路富集关系图。

2 结果与分析

2.1 化合物鉴定结果

基于UPLC-MS/MS检测平台和自建数据库共检测到534个代谢物,其中脂质126个、氨基酸及其衍生物100个、生物碱54个、核苷酸及其衍生物57个、有机酸79个、酚酸类44个、木质素和香豆素3个、鞣质2个及其他类69个(图1)。

2.2 质控分析

如图2所示,菌丝体样品(M组)和原基样品(P组)的组内相关性均非常接近1,说明组内样品相关性强,组内生物学重复性好。同时组内样品相对组间样品的相关系数高,说明获得的差异代谢物非常可靠。

2.3 主成分分析

通过对M组和P组进行主成分分析(PCA),发现前3个主成分共解释了95.07%的原始变量(PC1:85.98%,PC2:5.88%,PC3:3.21%),基本反映

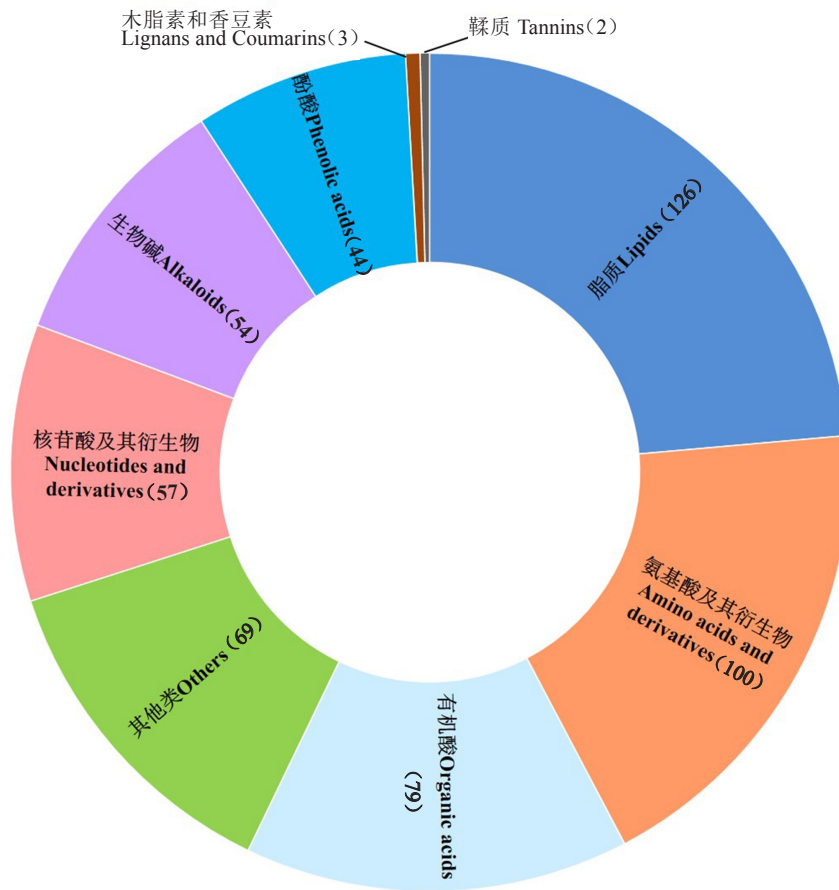


图 1 糙皮侧耳菌丝体和原基间差异代谢物

Fig. 1 Differential metabolite between mycelium and primordia of *P. ostreatus*

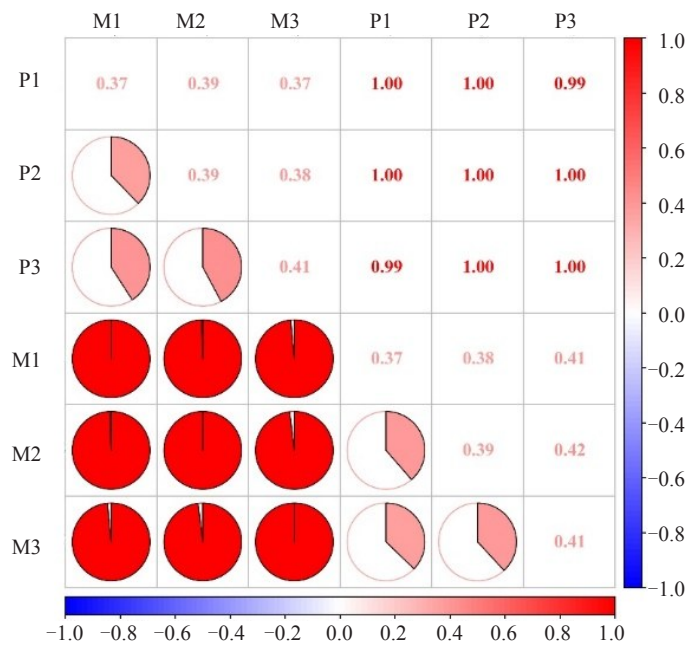


图 2 质控样本相关性分析

Fig. 2 Correlation analysis of quality control samples

了所有变量的信息(图 3-a)。PCA 结果显示组间分离趋势较好,表明 M 组和 P 组样本间的代谢组存在显著差异。由图 3-b 可知,M 组和 P 组分别位于 PC1 的正负方向,样品组呈现出明显的组别聚类趋势。因而,PCA 能够从整体上说明 M 组和 P 组之间的代谢产物具有明显的差异。

正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)结果表明,M 组和 P 组样品点分布在不同的区域,实现了这两组样品间的完全分离(图 4-a),说明两组代谢产物种类和(或)含量上存在明显差异。OPLS-DA 得到主成分 1 的方差贡献率为 87.00%、

主成分 2 的方差贡献率为 5.43%。模型质量参数 R^2X , R^2Y 和 Q^2 , 其中 R^2X 和 R^2Y 分别表示所建模型对 X 和 Y 矩阵的解释率, Q^2 表示模型的预测能力。一般认为, R^2X , R^2Y 和 Q^2 越接近于 1, 则模型越稳定可靠, $Q^2 > 0.5$ 时则认为是有效的模型, $Q^2 > 0.9$ 为出色的模型。由图 4-b 可知, 对 OPLS-DA 进行置换验证试验 ($n = 200$), X 轴方向模型的累积解释率 $R^2X = 0.924$, Y 轴方向模型的累积解释率 $R^2Y = 1$ 、模型的累积预测率 $Q^2 = 0.999$ 。因此, 可认为建立的 OPLS-DA 模型稳健可靠, 可用来探索 M 组和 P 组的代谢物差异。

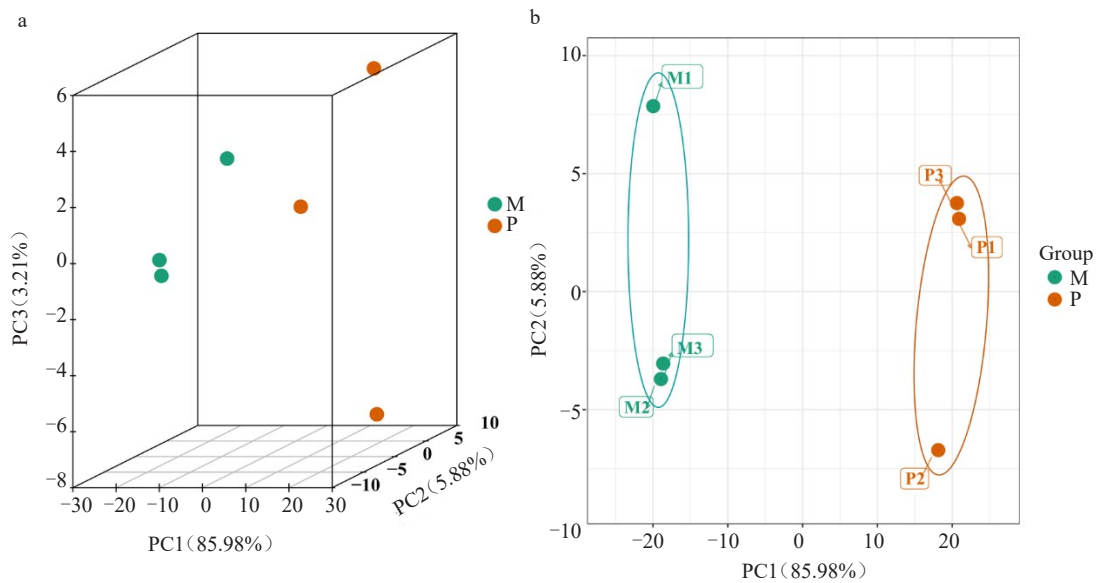


图 3 糙皮侧耳菌丝体和原基样品中代谢物的主成分分析得分图

Fig. 3 Principal component analysis score plots of metabolites in mycelium and primordia of *P. ostreatus*

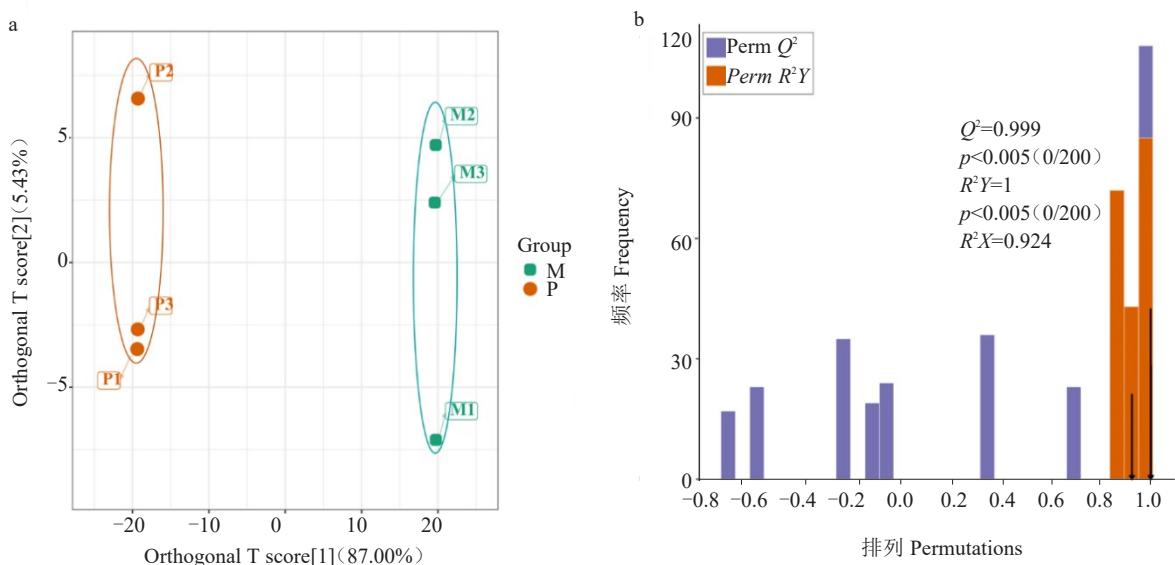


图 4 糙皮侧耳菌丝体和原基样品中代谢物的正交偏最小二乘判别得分图(a)及验证图(b)

Fig. 4 Orthogonal partial least squares discriminant analysis score plot(a) and validation plot(b) of metabolites in mycelium and primordia of *P. ostreatus*

2.4 差异代谢物筛选

采取将 Fold change、OPLS-DA 模型的 VIP 值相结合的方法来筛选具有差异性表达的代谢物,筛选标准为 $VIP \geq 1$ 和 $Fold\ change \geq 2$ 或 ≤ 0.05 。共筛选出 400 种差异代谢物,差异代谢物占总代谢物的 74.91%,说明菌丝体组和原基组代谢物质差异显著。其中氨基酸及其衍生物 80 种、酚酸类 33 种、核苷酸及其衍生物 46 种、木脂素和香豆素 3 种、其他类 46 种、鞣质 1 种、生物碱 43 种、有机酸 63 种和脂质 85 种(图 5-a)。原基组和菌丝体组相比,显著上调的代谢物有 310 种,显著下调的有 90 种(图

5-b)。对筛选到的差异代谢物的差异倍数进行 \log_2 处理,变化最显著的 20 种(上调和下调)差异代谢物见图 5-c。与 M 组相比,P 组中的 4-乙酰氨基丁酸、葡萄糖-1-磷酸、9-(阿拉伯糖基)次黄嘌呤、2-脱氧核糖-1-磷酸、L-苏氨酸、L-高丝氨酸、L-丝氨酸、环亮氨酸、L-天冬酰胺和溶血磷脂酰胆碱 18:3(2n 异构)等物质含量显著增加。而 15(R)-羟基亚油酸、1-甲基胍、2-氧代己二酸、丁香醛;4-羟基-3,5-二甲氧基苯甲醛、3-异戊烯基-4-O-葡萄糖氧基-4-羟基苯甲酸、水杨酸、松柏苷、7,8-二羟基-9,12-十八碳二烯酸、9-氨基吡啶并(1,2-a)吡啶 6,10-二酮和鸟苷

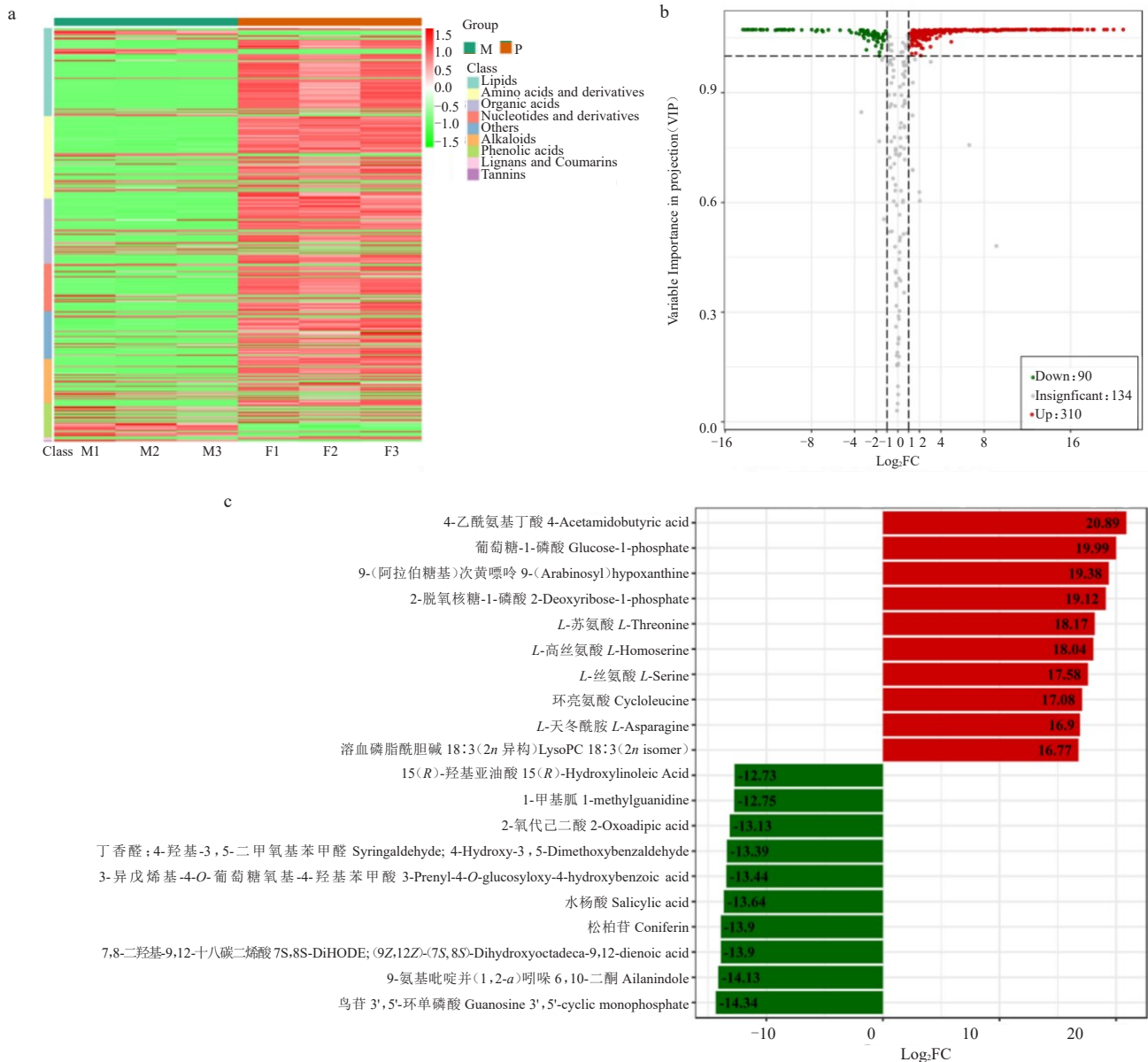


图 5 糙皮侧耳菌丝体和原基样品中差异代谢物热图(a)、火山图(b)和差异倍数柱状图(c)

Fig. 5 Heatmap(a), volcano plot(b), and histogram(c) of differential metabolites in mycelium and primordia of *P. ostreatus*

3',5'-环单磷酸等物质含量显著降低。

2.5 差异代谢物调控通路及富集分析

基于影响值大于 0 对关键代谢途径进行筛选,结果如图 6 所示,共得到 33 条关键代谢通路,其中影响值大于 0.3 的通路有 13 条,分别为丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,半胱氨酸和蛋氨酸代谢,半乳糖代谢,嘧啶代谢,丁酸代谢,精氨酸生物合成,淀粉和蔗糖代谢,三羧酸循环,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,嘌呤代谢,精氨酸和脯氨酸代谢,赖氨酸生物合成,烟酸和烟酰胺代谢。

对 $p < 0.01$ 的代谢通路进行分析并绘制气泡图(图 7),共显示 8 条代谢通路,分别为丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,氨酰 tRNA 生物合成,嘌呤代谢,赖氨酸生物合成,三羧酸循环,乙醛酸盐和二羧酸盐代谢,精氨酸和脯氨酸代谢,以及精氨酸生物合成。利用 KEGG 等权威物质数据库映射,得到通路所涉及的差异物质有 54 个。具有显著差异的 8 条代谢通路和 54 个物质的富集关系见图 8,所涉及的代谢通路主要为氨基酸调控通路,其中谷氨酸、谷氨酰胺参与了大部分通路,说明两者在连接各通路上具有重要作用(图 9)。

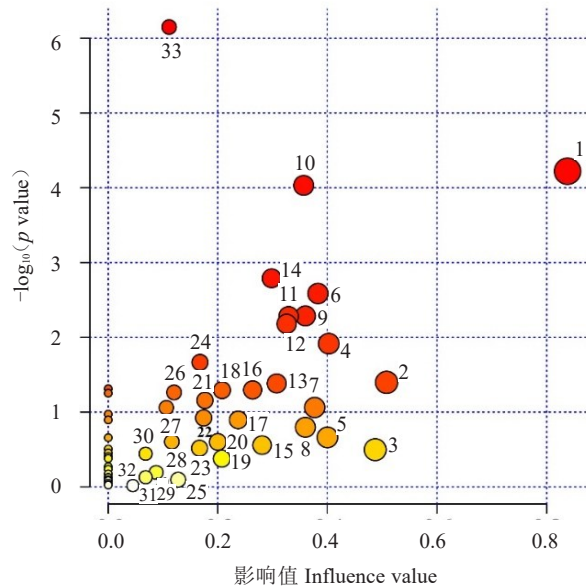


图 6 差异代谢通路富集分析

Fig. 6 Differential metabolite pathway enrichment analysis

3 讨论与结论

笔者利用非靶向代谢组学技术对糙皮侧耳菌丝体和原基的细胞代谢产物的差异进行分析,共检测出 534 种物质,通过 PCA 和 OPLS-DA 图可以看

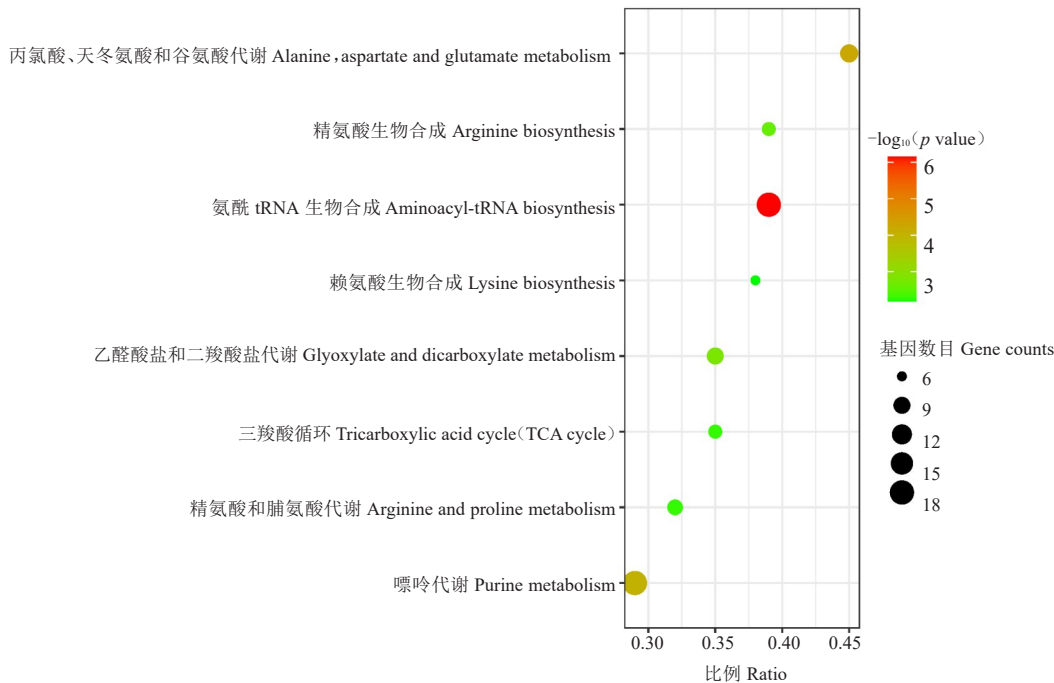


图 7 菌丝体和原基差异物质的 KEGG 富集图

Fig. 7 KEGG enrichment of differential substances in mycelium and primordia of *P. ostreatus*

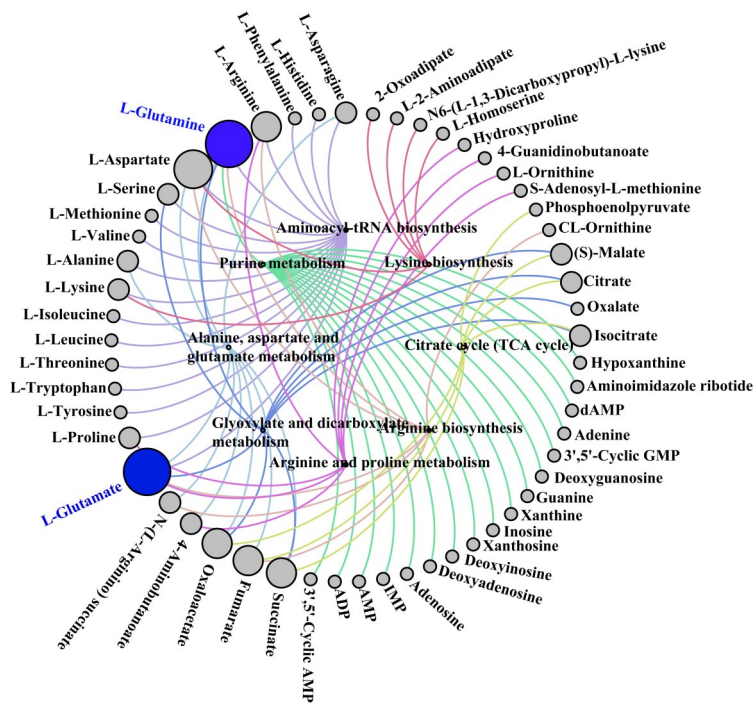
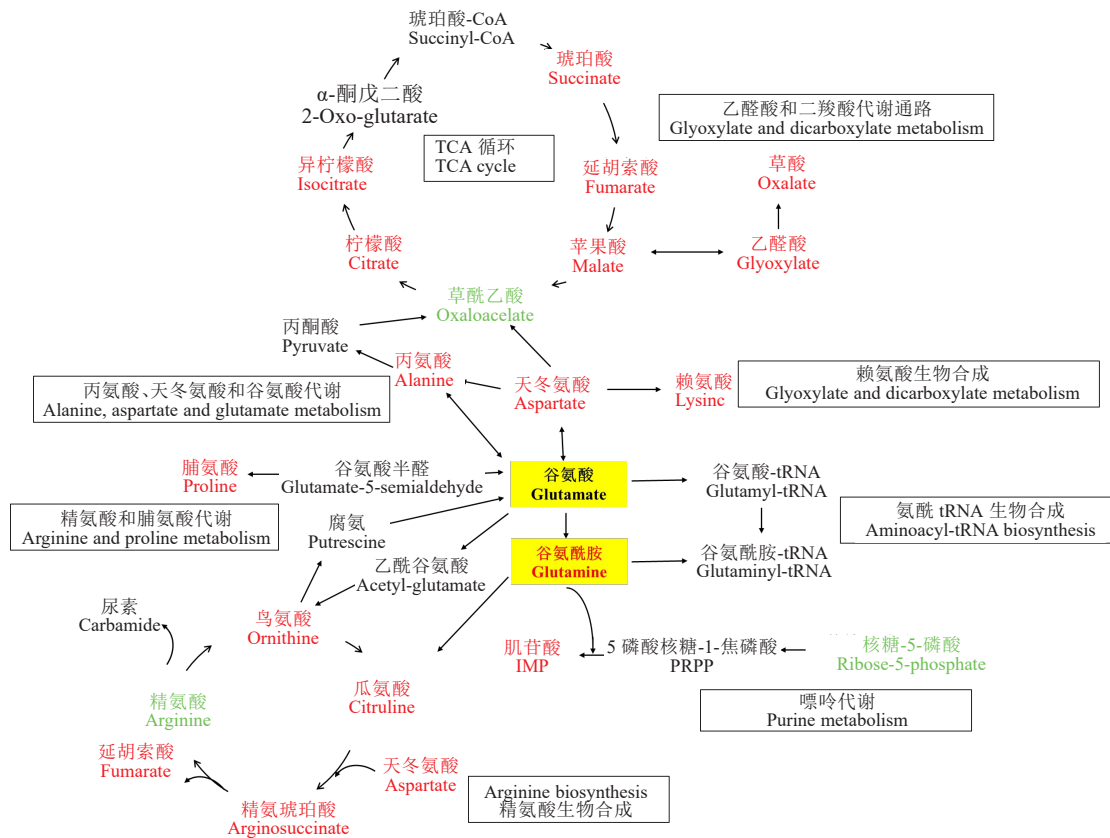


图8 菌丝体和原基差异物质及其调控通路的富集关系图

Fig. 8 Enrichment relationship between differential substances and regulatory pathway in mycelium and primordia of *P. ostreatus*



注:红色和绿色物质分别是上调和下调的差异代谢物。

Note: Red and green metabolites represent the up-regulated and down-regulated differential metabolites, respectively.

图9 p 值小于 0.01 的代谢通路

Fig. 9 The metabolic pathway with *p* value less than 0.01.

出菌丝体和原基样品之间的代谢物具有明显差异。以VIP ≥ 1 和倍数变化 ≥ 2 或 ≤ 0.05 为条件进行筛选,两组间的差异代谢物共有400种,其中含量上调的差异代谢物有310种,含量下调的差异代谢物有90种,这些差异代谢物,尤其是极显著上调、下调物质如4-乙酰氨基丁酸、葡萄糖-1-磷酸、9-(阿拉伯糖基)次黄嘌呤、9-氨基吡啶并(1,2-a)咪唑6,10-二酮和鸟苷3',5'-环单磷酸等可能对原基发育起潜在的调控作用。

对差异代谢物进行代谢通路分析,影响值大于0的代谢通路有33条,其中影响最大的有8条,分别为丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,氨酰 tRNA 生物合成,嘌呤代谢,赖氨酸生物合成,三羧酸(TCA)循环,乙醛酸盐和二羧酸盐代谢,精氨酸和脯氨酸代谢以及精氨酸生物合成。在所有代谢通路中丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢影响值最大,其中谷氨酸和谷氨酰胺参与了大部分通路,说明这些物质可能对糙皮侧耳原基发育具有重要的调控作用。该研究结果与杨晓敏等^[13]的研究结果一致,谷氨酸是连接各氨基酸通路的关键物质,可促进兰茂牛肝菌原基的萌发与生长。谷氨酸在生物生长、发育以及响应和适应环境胁迫中具有重要作用^[25]。谷氨酸、谷氨酰胺和草酰乙酸之间的转化可以将其代谢与TCA循环、碳代谢以及能量合成联系在一起^[13]。在丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢途径中,谷氨酸和谷氨酰胺可以通过天冬氨酸转化为草酰乙酸,也可以通过丙氨酸、丙酮酸转化为草酰乙酸,作为碳骨架的来源进入TCA循环。TCA循环是生物体内连接糖、氨基酸和脂类物质最重要的核心代谢途径之一,谷氨酸和谷氨酰胺可以通过TCA循环为原基生长发育提供所需的能量和营养物质^[26]。谷氨酸和谷氨酰胺还可作为生物体内氨基酸以及其他含氮物质生物合成的重要N供体。谷氨酸的碳骨架和 α -氨基是 γ -氨基丁酸、精氨酸和脯氨酸的合成基础^[27]。谷氨酸通过精氨酸生物合成途径生成鸟氨酸、瓜氨酸以及精氨酸;精氨酸又可分解为尿素和鸟氨酸,鸟氨酸经腐胺又生成谷氨酸,完成氮代谢,为原基的生长发育提供氮源。谷氨酸和谷氨酰胺可以通过谷氨酸激酶,生成谷氨酸半醛,进而生成脯氨酸。脯氨酸积累可稳定大分子化合物,在生物体组织分化和发育中发挥作用。谷氨酸和谷氨酰胺是细胞转氨化反应的主要氨基酸供体^[28]。此外,谷氨酸还在微生物脂质合成调控中起重要作用^[29]。谷氨酸还是四吡咯、谷胱甘肽和叶酸等物质合成的

前提和基础^[13]。因此,谷氨酸及谷氨酰胺对糙皮侧耳原基发育的调控作用及其机制值得关注及深入研究。

综上所述,笔者采用代谢组学方法分析了糙皮侧耳菌丝体及原基中细胞代谢产物的差异,推测谷氨酸和谷氨酰胺可能对糙皮侧耳原基发育具有重要的调控作用。下一步可在培养基中添加不同浓度的谷氨酸/谷氨酰胺以及相关抑制剂对其功能和作用机制进行深入研究。

参考文献

- [1] FERRAZ C G, RIBEIRO P R, VERDE B V, et al. Metabolite profiling of *Pleurotus ostreatus* grown on sisal agro-industrial waste supplemented with cocoa almond tegument and wheat bran[J]. *Chemistry and Biodiversity*, 2023, 20(9): e202300346.
- [2] 李玉,李泰辉,杨祝良,等.中国大型菌物资源图鉴[M].郑州:中原农民出版社,2015.
- [3] PELLEGRINO R M, IANNI F, BLASI F, et al. Lipidomic profiling of *Pleurotus ostreatus* by LC/MS Q-TOF analysis[J]. *Food Research International*, 2022, 156: 111335.
- [4] GUO Y X, CHEN Q J, QIN Y, et al. Succession of the microbial communities and function prediction during short-term peach sawdust-based composting[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 332: 125079.
- [5] TÖRÖS G, EL-RAMADY H, PROKISCH J, et al. Modulation of the gut microbiota with prebiotics and antimicrobial agents from *Pleurotus ostreatus* mushroom[J]. *Foods*, 2023, 12(10): 2010.
- [6] KONG W L, SUN B, ZHANG J Y, et al. Metagenomic analysis revealed the succession of microbiota and metabolic function in corn cob composting for preparation of cultivation medium for *Pleurotus ostreatus*[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 306: 123156.
- [7] 刘芹,崔筱,宋志波,等.不同成熟度平菇新鲜子实体中风味物质的比较分析[J]. *中国瓜菜*, 2022, 35(9): 38-47.
- [8] SHARMA A, SHARMA A, TRIPATHI A. Biological activities of *Pleurotus* spp. polysaccharides: A review [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2021, 45(6): e13748.
- [9] LIU Q, KONG W L, CUI X, et al. Dynamic succession of microbial compost communities and functions during *Pleurotus ostreatus* mushroom cropping on a short composting substrate[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 946777.
- [10] ZHANG Z Y, ZHANG X Y, XIN G, et al. Umami taste and its association with energy status in harvested *Pleurotus geesteranus* stored at different temperatures[J]. *Food Chemistry*, 2019, 279: 179-186.
- [11] 陈辉.氧化还原物质对斑玉蕈子实体形成及其发育影响的机制研究[D].合肥:合肥工业大学,2019.
- [12] 陈鹏至,崔凤仙,杨晓敏,等.促进兰茂牛肝菌原基发育的小分子物质及其通路分析[J]. *菌物研究*, 1-13[2023-09-01]. <https://link.cnki.net/urlid/22.1352.S.20230901.1052.003>.

- [13] 杨晓敏,崔凤仙,詹晓坤,等.代谢组分析亚洲兰茂牛肝菌原基发育的潜在调控物质[J].菌物学报,2023,42(5):1185-1202.
- [14] 李玉,朱秋瑾,李巧珍,等.利用转录组分析茉莉酸甲酯对金针菇原基生长的影响[J].食用菌学报,2022,29(3):1-9.
- [15] 雷露,吴天祥,王川南.基于UPLC-QTOF-MS代谢组学研究灰树花发酵的代谢差异[J].菌物学报,2020,39(10):1920-1932.
- [16] ZHAO X, CHEN M J, ZHAO Y, et al. GC-MS-based nontargeted and targeted metabolic profiling identifies changes in the *Leontinula edodes* mycelial metabolome under high-temperature stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(9):2330.
- [17] DU F, ZOU Y J, HU Q X, et al. Metabolic profiling of *Pleurotus tuoliensis* during mycelium physiological maturation and exploration on a potential indicator of mycelial maturation[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 9:3274.
- [18] FLORES G A, GIROMETTA C E, CUSUMANO G, et al. Untargeted metabolomics used to describe the chemical composition, antioxidant and antimicrobial effects of extracts from *Pleurotus* spp. mycelium grown in different culture media[J]. Antibiotics, 2022, 11(11):1468.
- [19] WANG J Q, XIAO J, GENG F, et al. Metabolic and proteomic analysis of morel fruiting body (*Morchella importuna*) [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2019, 76:51-57.
- [20] ZHAO X, CHEN M J, ZHAO Y, et al. GC-MS-based nontargeted and targeted metabolic profiling identifies changes in the *Leontinula edodes* mycelial metabolome under high-temperature stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(9):2330.
- [21] QIU Z H, WU X L, ZHANG J X, et al. High-temperature induced changes of extracellular metabolites in *Pleurotus ostreatus* and their positive effects on the growth of *Trichoderma asperellum* [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9:10.
- [22] 刘芹, 师子文, 吴杰, 等. 基于非靶代谢组学的糙皮侧耳子实体发育的关联物质及主要代谢通路分析[J]. 菌物学报, 2024, 43(2):230221.
- [23] 刘芹, 黄保, 胡素娟, 等. 基于非靶向代谢组学的平菇子实体发育过程中菌丝体差异代谢物分析[J]. 中国瓜菜, 2024, 37(1):45-55.
- [24] ZHANG Q, WANG L, LIU Z, et al. Transcriptome and metabolome profiling unveil the mechanisms of *Ziziphus jujuba* Mill. peel coloration[J]. Food Chemistry, 2020, 312:125903.
- [25] LIAO H S, CHUNG Y H, HSIEH M H. Glutamate: A multifunctional amino acid in plants[J]. Plant Science, 2022, 318:111238.
- [26] 王琪琳, 陈路. 三种酮酸与四大类物质代谢的关系[J]. 生命的化学, 2019, 39(3):616-622.
- [27] FORDE B G, LEA P J. Glutamate in plants: Metabolism, regulation, and signalling[J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(9):2339-2358.
- [28] CORUZZI G M. Primary N-assimilation into amino acids in *Arabidopsis* [J]. The Arabidopsis Book, 2003(2):e0010.
- [29] SARASA S B, MAHENDRAN R, MUTHUSAMY G, et al. A brief review on the non-protein amino acid, gamma-amino butyric acid (GABA): Its production and role in microbes[J]. Current Microbiology, 2020, 77(4):534-544.