

• 综 述 •

组学技术在黑果枸杞资源研究中的应用

李明珠^{1,3}, 刘增根^{1,2*}

1. 中国科学院西北高原生物研究所 青海省藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810001

2. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065

3. 烟台大学生命科学学院, 山东 烟台 264005

摘要: 黑果枸杞 *Lycium ruthenicum* 为我国西北特殊生境地区食药兼用的生态经济植物, 其浆果富含花色苷、花青素、多酚、多糖等物质, 是医药保健品、食品添加剂(天然色素)的主要成分和原料。随着测序技术和各组学学科不断发展, 组学技术已被广泛应用于黑果枸杞资源的各项研究中, 尤其从单一的基因组、转录组、代谢组、蛋白质组到多组学联合分析, 对黑果枸杞品质评价、耐盐碱、果实发育机制以及花青素合成与积累等研究更加深入。综述了近年来组学技术在黑果枸杞资源综合评价、抗逆、次生代谢物生物合成代谢调控中的应用, 探讨了资源品质差异成因和生态环境适应机制, 为黑果枸杞资源的保护、种质创新及合理开发利用提供科学依据。

关键词: 黑果枸杞; 次生代谢物; 花色苷; 花青素; 多组学; 药用资源

中图分类号: R282.71 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)01-0272-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.01.029

Application of omics technology in *Lycium ruthenicum* resourcesLI Ming-zhu^{1,3}, LIU Zeng-gen^{1,2}

1. Key Laboratory of Tibetan Medicine Research of Qinghai Province, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China

2. School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

3. School of Life Science, Yantai University, Yantai 264005, China

Abstract: *Lycium ruthenicum* is an edible and medicinal fruit tree, which widely distributes in the arid desert and saline-alkali region of Northwest China. *L. ruthenicum* berries have rich secondary metabolites (such as anthocyanins, anthocyanidins, polyphenols, and polysaccharides) and high economic and ecological values, which were widely used in the field of nutritional foods, biochemical drugs, and food additives. With the continuous development of sequencing technology and omics, omics technology (genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics) and integrative multi-omics approach have become important means for the research of *L. ruthenicum* resources (especially in the areas of quality evaluation, saline-alkali resistance, fruit development, and synthesis and accumulation of anthocyanins). The application of omics in recent years in comprehensive evaluation of *L. ruthenicum*, stress resistance, and biosynthesis and regulation of secondary metabolites was reviewed in this paper. The causes of differences in the *L. ruthenicum* resource quality and ecogeographic adaptation mechanism were also investigated, which provide scientific basis for the *L. ruthenicum* conservation, germplasm improvement and innovation and rational development and utilization of *L. ruthenicum*.

Key words: *Lycium ruthenicum* Murray; secondary metabolites; anthocyanin; anthocyanidin; multi-omics; medicinal resources

黑果枸杞 *Lycium ruthenicum* Murray 为茄科 (Solanaceae) 枸杞属 *Lycium* L. 多棘刺灌木 (图 1), 其果实味甜多汁, 民间常生食或榨汁做饮料, 具有滋补强壮、明目及降压作用, 其根可以治咳嗽、哮

收稿日期: 2022-10-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32170394); 中国科学院西部之光青年学者 A 类项目 (2019)

作者简介: 李明珠, 硕士研究生, 研究方向为中药资源化学及品质综合评价。E-mail: lmz1559725@163.com

*通信作者: 刘增根, 副研究员。Tel: (0971)6143747 E-mail: lzg2005sk@126.com



图1 黑果枸杞的花和果实

Fig. 1 Flowers and fruits of *L. ruthenicum*

喘、感冒和发烧，叶民间当茶泡饮^[1]。作为我国西北盐碱、荒漠地区具有重要生态和经济价值的药食兼用资源植物，黑果枸杞含有花色苷、花青素、多酚、黄酮、多糖、生物碱、氨基酸、矿质元素、维生素等多种成分，具有补肾益精、养肝明目、生津止渴、润肺止咳、补血安神等功效^[2-3]，尤以其主要次生代谢物花青素类化合物已被广泛应用于医药保健品、食品添加剂、化妆品等领域，并在我国传统民族医药（藏药、蒙药、维药）中占重要地位^[4]。黑果枸杞所处的独特生态地理环境，如生长环境纬度高、盐碱化程度高、紫外线强、昼夜温差大、日照时间长等，都有助于次生代谢产物（如花青素、多酚、黄酮、多糖等）的转化与积累^[2,5-7]。近年来，资源过度开发、质量不稳定、产地来源混乱和有效成分地理变异显著等问题已经明显制约了黑果枸杞产业的发展^[8-9]，因此亟待寻找黑果枸杞品质差异形成原因以及构建资源（道地性）生态环境评价体系。

随着高通量测序技术的出现、色谱/质谱技术的快速发展以及分子生物学新方法的开发^[10-11]，促进

了以基因组学研究为基础，涵盖转录组学、蛋白组学、代谢组学、相互作用组学和表型组学等系统生物学研究模式和多组学研究方法的集成（图2），将为现代药用植物资源综合评价、次生代谢物合成调控、种质创新等研究领域带来新的机遇^[12-14]。因此，本文综述了近年来组学技术在黑果枸杞资源评价、耐盐碱、花青素合成与代谢、果实发育机制等研究中的应用，为探索黑果枸杞品质形成机制、解析资源生态环境适应机制、科学发展人工种植奠定基础，为国家特色民族资源保护与利用提供参考。

1 黑果枸杞资源及其综合评价研究

黑果枸杞是一种多年生灌木，具棘刺，多分枝，浆果球形，成熟后为紫黑色，有很高的光合效率和较强抗逆性，是我国西北荒漠、盐碱地区一种特有的药食兼用的民族资源植物；在我国主要分布于内蒙古西部、陕西北部、宁夏、甘肃、青海和新疆等地，中亚、高加索和欧洲等地区亦有分布^[15-16]。黑果枸杞蒙名为“乔诺英-哈尔马格”、藏药名“旁玛”，藏医用它治疗心热病、心脏病、月经不调、停经等

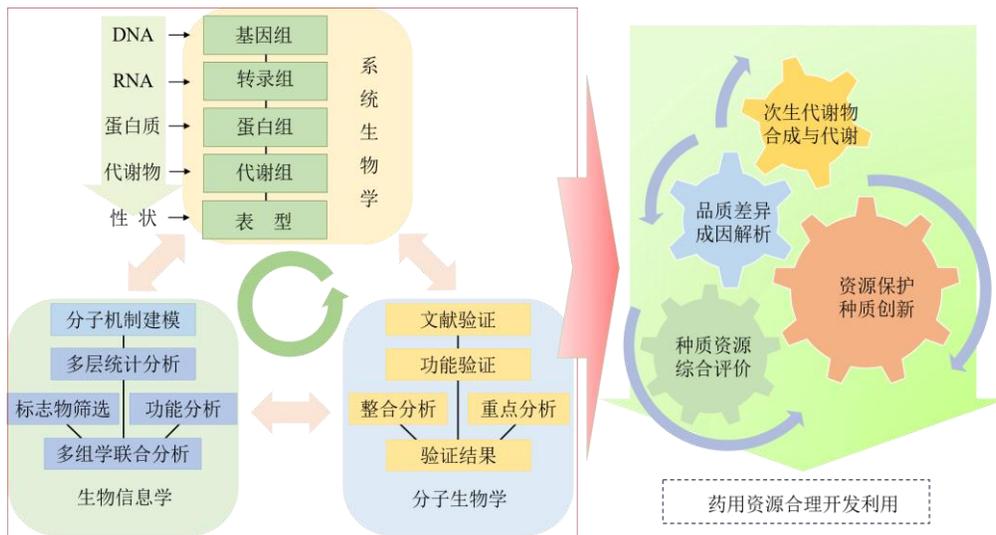


图2 多组学联合分析在药用植物资源研究中的应用

Fig. 2 Application of multiomics analysis in medicinal plant resources

病症。《维吾尔药志》记载，黑果枸杞果实及根皮常用于治疗尿道结石、癣疥、齿龈出血等病症。黑果枸杞果实味甜多汁且富含花色苷、花青素、生物碱、多酚、黄酮、维生素、有机酸及糖类，民间常生食或榨汁做饮料，可起到滋补强壮、明目、降血压及预防心脑血管疾病的功效。现代药理学研究发现，黑果枸杞果实及叶提取物具有增强机体免疫、抗氧化、抗疲劳、调血脂、降尿酸、保肝护肾、抗动脉粥样硬化等功效^[1-2]。2017 年 2 月 6 日，黑果枸杞被国家卫生健康委员会正式批准纳入普通食品管理，从而进入更加广阔的消费市场。近年来，黑果枸杞种植业发展迅猛，尤以青海、新疆等地的种植面积不断扩大^[17]。据青海省林草局统计，2018 年青海省黑果枸杞种植面积达 1.20 万 hm^2 ，干果产量约 1.85 万 t，产值达 11.67 亿元；该产业带动就业人数达 3.25 万人，当地农牧民每月人均增收 3100 多元，成为当地群众脱贫致富、“乡村振兴”的富民产业^[17-19]。

目前，黑果枸杞因独特的生物活性和巨大的生态经济价值使其成为国内外学者竞相研究与开发的对象^[1-2]，在保健品、食品、化妆品等行业需求量较大，资源的过度利用正严重威胁其野生种质资源。此外，随着整个生态环境日趋恶化和人为过度采摘砍伐，野生资源正在大面积的减少，部分地区甚至出现枯竭^[8]。因此，开展黑果枸杞居群遗传多样性和分子评价的研究有利于其野生种质资源的保护和可持续利用，并为黑果枸杞的科学育种及种质创新提供依据。刘增根^[20]利用序列相关扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP) 分子标记对我国青海、甘肃、宁夏和新疆的 14 个野生黑果枸杞居群的遗传多样性和遗传结构进行了研究与分析。应用筛选出的 31 对 SRAP 引物组合对黑果枸杞基因组 DNA 进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR) 扩增，共检测到 468 个有效位点，其中多态性位点 398 个，多态位点百分率为 85.04%。Nei 基因多样性和分子方差分析(molecular variation analysis of variance, AMOVA) 显示，总的遗传变异中 15.55% 存在于居群间，84.45% 存在于居群内，表明遗传分化主要存在于种群内。居群间具有中等的遗传分化($G_{st}=0.2155$)；基因流(N_m) 为 1.8199，表明各居群间有较高水平的基因流动，能有效防止基因空间异质性。阿力同·其米克等^[21]采用分子标记技术(inter-simple sequence repeat, ISSR) 对新疆南部黑果枸杞 6 个自然居群及

甘肃 2 个自然居群共 115 个样品进行了 DNA 多态性分析。从 60 个随机引物中筛选出 7 个有效引物，共产生 64 条 DNA 片段，其中 50 条为多态性条带，多态位点百分率为 78.1%。黑果枸杞个体间非加权组平均法聚类结果表明，同一居群的个体不能完全聚在一起，来自新疆和甘肃 2 区域的黑果枸杞材料也不能完全分开。探讨了可能造成上述居群遗传结构模式的主要因素，同时提出了今后对新疆南部黑果枸杞保护工作中需进一步解决的问题。

本课题组基于前期调查与研究发现，同一产区种植和野生黑果枸杞的主要成分(次生代谢物和营养成分) 种类一致，且含量差异不显著^[3,9]，提示发展人工种植黑果枸杞可能是一种更好并值得推广的方式，在保障与野生黑果枸杞品质一致的情况下实现该资源的健康持续利用。然而，不同产区的黑果枸杞部分表型性状及有效成分种类和含量差异明显^[3,9,22](尤以花色苷、多糖、总多酚、总黄酮等次生代谢产物差异显著)，由于缺乏对其次生代谢物差异机制、质量标准与控制、生境适宜性评价等多方面的综合研究，导致出现种质创新能力差、质量不稳定、市场秩序混乱、种源混杂等诸多问题^[2-3,9,18-20]。因此，资源品质差异明显和适宜性评价体系缺乏严重制约了黑果枸杞产业发展，如何保护黑果枸杞资源并在保护的基础上合理开发利用这笔宝贵的财富，同时探索资源品质形成过程和生境适宜性评价与区划研究，探究组学技术在资源研究中的应用，以及科学发展人工种植缓解野生资源危机，已是从事黑果枸杞研究和开发人员所关注的重大课题。

2 基因组学在黑果枸杞研究中的应用

基因组学是一门研究生物基因组以及如何利用基因的学科^[23]，主要通过对个体与群体的基因进行定性定量分析，挖掘基因型与表型之间的关系，揭示生物机体可能发生什么。基因组学研究方法有基因组从头测序、重测序和简化基因组测序，该研究主要分功能基因组学和结构基因组学 2 个方面，后者的目标是通过基因组测序与拼接获得全基因组序列。结构基因组学研究包括遗传作图、基因组 de novo 测序、叶绿体和线粒体基因组、比较基因组学^[24]。目前有关黑果枸杞结构基因组学研究主要集中在叶绿体基因组学分析。

叶绿体是植物特有的细胞器，叶绿体基因组的特点是拷贝数高、进化速率适中、单亲遗传和不存在基因重组等。随着现代测序技术和高通量、高分

分辨率技术平台的不断发展,叶绿体基因组分析在系统发育树构建和物种亲缘关系研究中得到广泛应用^[25-26]。刘晶星^[27]基于 Illumina HiSeq 2 000 测序平台对黑果枸杞叶片基因组进行分析,获得叶绿体基因组总长 154 965 bp, GC 含量为 37.91%, 基因区所占的比例接近 60%; 在 130 个注释基因中, 蛋白基因 86 个, rRNA 基因 8 个, tRNA 基因 36 个。另外, 基因 *accD* 编码乙酰辅酶 A 羧化酶的 CT 亚基, 是乙酰辅酶 A 羧化酶表达水平的限制因子; 而黑果枸杞的 *accD* 基因有 3 个位置的突变, 造成其编码的蛋白只有 480 aa。而 Yisilam 等^[28]学者测得整个叶绿体基因组的长度为 154 996 bp, 由 2 个反向重复区域 (25 395 bp)、1 个 85 993 bp 的大单拷贝区和 1 个 18 213 bp 的小单拷贝区组成。基因组的总体 GC 含量为 37.90%。叶绿体基因组由 111 个独特基因组成, 包括 30 个 tRNA 基因、4 个 rRNA 基因和 77 个蛋白质编码基因。黑果枸杞的序列与其他茄科叶绿体基因组一致, 系统发育树由 MEGA6 构建, 以旋花科 (Convolvulaceae) 物种为外群, 系统发育分析表明, 黑果枸杞与茄科植物颠茄 *Atropa belladonna* L.、马尿泡 *Przewalskia tangutica* Maxim. 和 *Scopolia parviflora* (Dunn) Nakai 聚在一起, 具有密切的亲缘关系。

Wang 等^[29]对宁夏植物园采集的黑果枸杞鲜叶进行完整叶绿体基因组测序, 分析得到叶绿体基因组的大小为 154 979 bp, 包括 2 个反向重复区域 (25 395 bp)、1 个 85 984 bp 的大单拷贝区和 1 个 18 205 bp 的小单拷贝区组成。共预测了 132 个基因, 包括 37 个 tRNA、8 个 rRNA 和 86 个蛋白质编码基因。此外, 9 个 PcG 基因具有单个内含子, 74 个 PcG 基因没有内含子, 另外 3 个基因具有 2 个内含子, 6 个 tRNA 基因是单个内含子; 叶绿体基因组的总 GC 含量为 37.90%。对黑果枸杞和其他 23 个完整的茄科物种叶绿体基因组进行了系统发育分析, 包括茄亚科和烟亚科以及旋花科的 2 个物种牵牛 *Ipomoea nil* L.、大星牵牛 *I. trifida* (Kunth) G. Don 和另外 2 个物种 *Pogostemon stellatus* (Lour.) Kuntze 和 *Scrophularia takesimensis* Nakai 为外群, 用 RAxML 构建的最大似然树, 系统发育分析进一步验证了黑果枸杞归入茄科植物。

Cui 等^[30]也获得了黑果枸杞叶绿体基因长度 (15 486 9 bp), 总 GC 含量为 37.90%。叶绿体基因组共编码 113 个差异基因, 包括蛋白编码基因 85

个、tRNA 37 个、rRNA 8 个和假基因 3 个, *accD* 基因在黑果枸杞中发生突变, 且包含 18 个具有内含子的基因。通过构建最大似然法系统进化树发现, 宁夏枸杞 *L. barbarum* L. 和中华枸杞 *L. chinense* Mill. 有较近的亲缘关系, 与黑果枸杞聚为姐妹分支。上述叶绿体基因组的测序工作, 丰富了黑果枸杞的基因组学数据, 为黑果枸杞资源表型多元化、生态适宜性和种质评价研究提供了科学依据。

3 转录组学在黑果枸杞研究中的应用

转录组学是从核酸水平研究特定细胞和组织在某一发育阶段或功能状态下转录出来的所有 RNA 的总和^[31], 揭示生命机体正在发生什么。转录组的定义中包含时间和空间限定, 通过测序分析可检测所有正在表达基因的变化动态, 并几乎可获得所有转录本, 并阐明细胞或组织的生命活动状态。高通量测序主要包括 Roche 454 测序技术、Illumina Sanger 测序技术和 ABI SOLID 测序技术, 目前应用最广泛的测序技术是由 Illumina 公司开发的 MiSeq 和 HiSeq 平台, 该技术测序具有通量高、准确率高、速度快和成本低等特点^[32-33]。

3.1 盐胁迫转录组学分析

目前, 全世界超过 1/3 的农业面积受到盐碱化的影响。土壤盐分是一个日益严重的全球性问题, 它会影响植物生长和作物产量, 给现代农业带来严重问题^[34]。渗透胁迫伴随着盐分胁迫会导致气孔迅速关闭, 从而降低植物吸收二氧化碳的能力^[35]。盐胁迫已经造成对枸杞属物种光合作用和蒸腾作用的负面影响^[36]。

Qin 等^[37]对黑果枸杞转录组学分析, 在高盐度处理下, 有 141 个基因差异表达, 其中 80 个基因上调, 61 个基因下调。黑果枸杞盐敏感基因主要富集于内质网的碳代谢和蛋白质加工有关的信号转导途径。Chen 等^[38]利用对照和混合盐碱处理黑果枸杞幼苗的 mRNA 构建混合 cDNA 文库, 在优化组装后, 共获得 68 063 个独特的转录序列, 平均长度为 877 bp; 在这些序列中, 4096 个单基因在盐碱混合处理后上调, 4381 个单基因在盐碱混合处理后下调。

Mo 等^[39]开展了盐胁迫处理黑果枸杞幼苗 (21 d 生, 200 mol/L) 和成年树 (3 年生, 300 mol/L) 的生理表型分析, 采用加权基因共表达网络分析转录组数据挖掘与花青素合成、盐胁迫响应相关的候选 LrMYB112 类转录因子, 并对其调控花青素、盐胁迫相关基因表达的功能进行了初步探究。研究结果

发现, 盐胁迫促进黑果枸杞花青素生物合成, 启动耐盐胁迫的生理反应机制, 并证实了 LrMYB78a、LrMYB78b 和 LrMYB112 转录因子参与黑果枸杞花青素生物合成与响应盐胁迫。

3.2 果实发育过程中转录组学分析

Ma 等^[40]通过研究与花青素积累相关的绿色成熟阶段、表皮颜色变化阶段和完全成熟阶段的黑果枸杞转录组, 结果发现, 在 43 573 个组装的单基因中, 有 12 734 个在黑果枸杞的果实成熟过程中差异表达; 鉴定出 25 个显著差异表达的结构基因 (*PAL*、*C4H*、*4CL*、*CHS*、*CHI*、*F3H*、*F3'H*、*F3'5'H*、*DFR*、*ANS*、*UGT*) 可能与花青素生物合成相关。

Li 等^[41]基于 Illumina HiSeq 测序平台对黑果枸杞 5 个不同发育阶段果实颜色进行转录组分析, 结果显示, 在转录组中共鉴定出 31 302 个差异基因, 72 个关键候选基因对参与类黄酮和花青素生物合成的 14 种酶产生直接影响。朱雪冰等^[42]在黑果枸杞中测得 1.167×10^8 和 9.695×10^7 reads, 筛选出了 13 个与花青素生物合成有关的基因, 克隆黑果枸杞中 *MYB* 基因的转录因子 SlAN2, 该基因全长 774 bp, 编码 257 个氨基酸, 相对分子质量为 29 775.84, 等电点为 7.79。严莉等^[43]基于转录组数据分析 *MYB* 基因在黑果枸杞果实不同发育期的差异表达模式, 结果表明, *MYB* 基因可能参与了果实不同发育时期花青素变化的调控, 利用荧光定量 PCR 的差异表达数据进一步验证了部分 *MYB* 转录因子在果实不同发育时期的花青素合成中可能起到调控作用; 同时黑果枸杞 *MYB* 基因家族注释得到 83 个 *MYB* 类转录因子基因, 为进一步研究 *MYB* 家族的基因结构和生物学功能奠定了基础。

彭勇等^[44]对黑果枸杞 3 个不同发育时期的果实进行转录组测序分析表明, 京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 信号通路富集显示亮氨酸生物合成途径在变色期对比青果期有 7 个差异表达基因, 黑熟期对比变色期有 35 个差异表达基因, 且全部为上调表达; 在糖酵解途径中 3 个不可逆的反应步骤限速酶基因在黑熟期均为上调表达。孟小伟等^[45]对黑果枸杞果实不同发育过程进行转录组测序, 共得到 43 573 条 Unigene, 有 23 723 条 Unigene 在基因本体 (gene ontology, GO)、KEGG、真核同源群簇 (euKaryotic orthologous groups, KOG)、非冗余蛋白 (nonredundant protein, NR) 和 SwissProt 5 个数据

库中得以注释, 筛选出与类黄酮生物合成有关的 Unigene 45 个, 这为与黑果枸杞果实品质有关基因筛选、克隆和功能分析等提供研究基础和理论依据。

3.3 花青素生物合成转录组学分析

包雪梅等^[46]基于转录组测序和生物信息学分析, 从黑果枸杞和白果枸杞 (黑果变异) 中共检测到 25 279 个基因差异表达, 其中 12 381 个基因在黑果枸杞表达上调, 12 898 个基因表达下调; KEGG 富集结果显示, 共有 571 个差异表达基因参与植物次生代谢产物合成, 尤其是在黄酮类和花青素生物合成代谢通路中差异最为明显。黑果枸杞中共有 8 个参与花青素合成代谢的结构基因的表达量均高于白果枸杞, 表明花青素的生物合成可能与黑果枸杞黑果性状相关。调控花青素生物合成的 bHLH 转录因子 CL8159.Contig5_All 的表达水平比白果枸杞增强了 2 139.57 倍, 推测这个基因很有可能是控制黑果枸杞黑果性状的候选基因。

Zeng 等^[47]采用 Illumina Hiseq 2000 平台测定了黑果枸杞果实在 5 个不同发育阶段花青素生物合成相关的基因序列, 分离出参与黑果枸杞花青素生物合成的结构基因 (*C4H*、*CHS*、*CHI*、*F3'H*、*F3'5'H*、*DFR* 和 *ANS*), 从转录组数据库中检索到编码 *4CL*、*F3'H*、*UF3GT*、*GST*、*AT*、*AN2*、*JAF13*、*AN1B* 和 *AN1I* 的序列, 并应用 Mega 4.0 对相关基因进行系统发育分析。上述基因在果实发育过程中的表达谱表明, 在果实中转录丰度与花青素积累之间存在显著的正相关; *AN2* 和 *JAF13* 或 *AN1b* 可能共同调控 *DFR*、*ANS*、*UF3GT*、*GST* 和 *AT* 的转录, 从而调控黑果果实中花色苷的合成。此外, 调控基因和结构基因的表达模式以及分支节结构基因 *F3'5'H/F3'H* 的转录比率可能决定了黑果枸杞和宁夏枸杞果实之间花青素生物合成的表型差异。

Zong 等^[48]研究 *AN2* 等位基因存在与果实颜色的关系, 根据转录组分析结果从黑果枸杞和宁夏枸杞中分离得到编码 *MYB* 转录因子的 *LrAN2* 和 *LbAN2*。在系统发育树中, *LrAN2* 和 *LbAN2* 与调节烟草花青素合成的 *NTAN2* 关系密切, 而 *LrAN2* 的过度表达诱导烟草所有组织中花青素的生物合成, 且明显强于 *LbAN2*。此外, *AN2* 转录因子仅在黑果果实中检测到, 并在果实发育过程中增加, 伴随着花色苷的积累; 而 *LrAN2* 的功能多样性和高表达水平可能是黑果枸杞果实花青素含量高的原因。上述研究结果为黑果枸杞资源改良与利用提供了重要基

因资源,为花青素的生物合成与代谢提供了坚实的理论基础。

4 蛋白质组学在黑果枸杞研究中的应用

蛋白质组学是以蛋白质组为研究对象,研究细胞、组织或生物体蛋白质组成及其变化规律的科学^[49],它主要利用高效液相色谱-串联质谱法技术获取某一时刻生物体内所有表达蛋白,揭示生物体已经发生什么。蛋白质组学是基因表达调控机制研究的一个重要工具。当前,随着高精度度、高分辨率、高灵敏度、高通量的生物质谱仪器的快速发展,以及各物种基因数据库、蛋白质数据库的不断完善,配合基于复杂算法的生物信息学工具,蛋白质组学的研究内容、研究方法和研究领域都发生了翻天覆地的变化^[50]。目前的蛋白质组学研究方法有双向凝胶电泳技术、质谱技术、同位素的相对和绝对定量标记技术、蛋白质芯片技术、酵母双杂交系统技术和免疫共沉淀等技术;其中,同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)、串联质谱标签(tandem mass tags, TMT)是最常用的基于同位素标记质谱分析的定量蛋白质组学分析技术,可对多达 16 (8) 个不同样本进行蛋白定量比较,标记效率和质谱检测灵敏度高,适用范围广泛^[51]。

同一生物体在不同生长时间和生长环境下,基因表达情况并不完全相同,进行多器官、多时期、多维度、多水平的药用植物蛋白质组学研究,建立药用植物功能基因库,可为药用植物种质资源评价、中药材质量控制和标准建立、新品种选育、有效成分的合成生物学等领域提供分子基础,推动药用植物产业的健康可持续发展^[52]。

目前,蛋白质组学技术在植物的研究领域使用广泛,然而关于黑果枸杞蛋白质组学的研究较少。汪亚娟等^[53]采用 iTRAQ 技术鉴定出 862 个黑果枸杞蛋白质,经 100 mmol/L 盐处理 7 d 后黑果枸杞检测出 165 个表现差异的蛋白质,其中有 72 个蛋白质上调,93 个蛋白质下调。并了解到盐胁迫主要影响了黑果枸杞的能量代谢与离子运输,其中参与离子运输的差异蛋白质共 4 个,全都是上调的膜孔蛋白;参与能量代谢的差异蛋白质共有 13 个,包括 9 个上调蛋白和 4 个下调蛋白。此外,黑果枸杞受到盐胁迫时有利于黄酮类化合物的大量合成,并且以增加对香豆酸进入木质素生物合成途径的方式来促进黄酮类化合物的积累,从而缓解盐胁迫带来的氧

化损伤。因此,体内黄酮类化合物的积累可能是盐生植物黑果枸杞对抗高盐环境的机制之一,而且该研究鉴定出的一些有价值的蛋白质,为进一步研究盐生植物耐盐机制和为作物耐盐驯化提供了新的依据。

5 代谢组学在黑果枸杞研究中的应用

代谢组学是对内源性及外源性小分子代谢产物进行定性和定量检测,并寻找与机体生命活动、病理变化相对应的代谢物质的研究方法^[54]。代谢组学揭示了生命体活动事件确实发生了,它根据研究目的不同分为靶向代谢组学和非靶向代谢组学,两者各有各的优势和特点。靶向代谢组学定性定量准确,但对物质的覆盖率有限;而非靶向代谢组学对物质的覆盖率广泛,但缺乏绝对定性定量的数据^[55]。

代谢组学是对基因组学和蛋白质组学的补充,常见的分析手段包括液质谱联用(liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)、气质谱联用(gas chromatograph mass spectrometer, GC-MS)、超高效液质联用(ultra performance liquid chromatography mass spectrometer, UPLC-MS)、毛细管电泳质谱联用(capillary electrophoresis mass spectrometer, CE-MS)、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)等,四极杆线性离子阱(quadrupole-trap, Q-Trap)、四极杆飞行时间(quadrupole-time of flight, Q-TOF)及离子阱飞行时间(ion trap-time of flight, IT-TOF)等串联质谱也被广泛应用。植物代谢物种类繁多(已超过 20 万种),很多医药资源、食品及工业原料都是植物代谢产物,因此,代谢组学在植物研究领域的应用尤为重要。通过植物代谢组学的定性和定量分析,可阐明不同生态地理环境下代谢物的变异规律、研究同一植物不同时期或不同部位或不同产区代谢物种类及含量的差异、推测相应的合成与代谢途径以及代谢调控网络等,为药用植物资源的品质差异成因解析、物种鉴别以及活性成分合成分子机理研究提供理论依据^[56]。目前,有关黑果枸杞代谢组学的研究主要集中在盐胁迫和果实发育过程方面。

5.1 盐胁迫代谢组学分析

Qin 等^[37]发现黑果枸杞在盐胁迫下有 69 种代谢产物的表达水平发生了变化,其中 34 种表达上调,35 种表达下调。研究还发现正常条件下黑果枸杞中的脱落酸含量显著低于枸杞,而在盐胁迫处理下黑果枸杞中的脱落酸含量急剧上调,但是枸杞中

并未发生显著变化。盐胁迫在枸杞叶片中诱导的代谢物变化主要通过以下途径富集：嘌呤代谢、半胱氨酸和蛋氨酸代谢以及蛋白质的消化和吸收；而在盐度压力下，黑果枸杞叶代谢产物差异主要集中于不同环境中的微生物代谢、嘌呤代谢、色氨酸代谢、苯丙烷类生物合成以及黄酮和黄酮醇生物合成代谢等途径。此外，在正常条件下，黑果枸杞比枸杞含有更高的黄酮类化合物含量，提示黑果枸杞比枸杞更耐盐。综上，该研究表明脱落酸和黄酮类化合物在枸杞属植物耐盐中发挥重要作用，该研究结果对未来作物抗盐育种和资源驯化有重要参考价值。

5.2 成熟浆果的代谢组学分析

Li 等^[41]采用 LC-ESI-Q-Trap-MS/MS 技术对黑果枸杞和白果枸杞黄酮代谢产物进行差异分析，研究鉴定出 15 种花青素，包括天竺葵素、矮牵牛素、锦葵素和飞燕草素等，在黑果枸杞果实中发现 23 种黄酮代谢物；2 种浆果的代谢物在早期苯丙烷途径上没有差异，从黄酮类化合物合成代谢途径开始差异显著。黑果枸杞成熟果实主要积累飞燕草素衍生物，白果枸杞成熟果实中的黄酮醇含量是黑色果实的 2~3 倍；另外，黑果枸杞成熟果实具有更多的上游底物柚皮素查耳酮和柚皮素来产生下游黄酮化合物，且有更多的二氢杨梅素和二氢槲皮素来合成下游花青素。同时还发现了黑果枸杞浆果成熟过程中存在 3 种花青素转运机制，即谷胱甘肽 *S*-转移酶介导的转运、多耐药相关蛋白和多药和有毒化合物外排转运蛋白介导的转运以及膜囊泡介导的转运。

李丽等^[57]采用 UPLC-Orbitrap MS 技术对植物乳杆菌 GH-6 发酵前后黑果枸杞浆的成分进行分析，共鉴定出 61 个代谢物。随后，在发酵液、原浆以及添加蔗糖及乳清蛋白后的发酵液中筛选出 22 个差异性代谢物，其中 2 种糖类、3 种有机酸类、3 种嘌呤类、3 种氨基酸类、4 种花青素类和 7 种小肽类，这也说明乳杆菌 GH-6 发酵可显著影响黑果枸杞浆中的代谢变化。Liu 等^[3,9]基于黑果枸杞植物化学成分（如飞燕草素、锦葵素、矮牵牛素及其花色苷类以及多糖、多酚、黄酮、生物碱等）的色谱和质谱研究以及代谢组学分析，建立了有效成分测定与分析技术平台；同时分析了不同产区及野生和种植的黑果枸杞花青素、花色苷、黄酮、酚酸、多糖等成分含量差异以及与生态环境因子的相关性，构建了黑果枸杞化学指纹图谱与有效成分定量分析相结合的化学多样性评价体系。

彭玉娇等^[58]采用 LC-MS 非靶向代谢组技术对黑果枸杞和宁夏枸杞浆果进行代谢物差异分析，共检测出 6982 种代谢物并获得 501 种差异代谢物，黑果枸杞中表达上调的差异代谢物有 240 种，表达下调的代谢物有 261 种，前 50 的差异代谢物中有 6 种是氨基酸和多肽类物质、7 种是黄酮类化合物。对总黄酮的含量分析发现，黑果枸杞总黄酮含量较高，有 5 种差异代谢物参与到黄酮合成代谢途径中，另有 15 种差异代谢物参与 4 个氨基酸代谢相关通路，提示这些代谢物的差异表达可能导致宁夏枸杞与黑果枸杞氨基酸的差异。该研究为深入了解两枸杞物种中的氨基酸代谢以及对它们的差异利用提供科学基础。

6 多组学联合分析在黑果枸杞研究中的应用

多组学联合分析方法将基因、mRNA、调控因子、蛋白、代谢等不同层面之间信息进行整合，构建基因调控网络，深层次理解各个分子之间的调控及因果关系，从而更深入探索和认知机体生长发育进程和抵御逆境过程中复杂性状的分子机制和遗传基础^[12-13,59]。因此，通过转录组学和代谢组学联合分析，有助于解析黑果枸杞中代谢物合成的表达调控网络及代谢网络，为挖掘到与类黄酮（花青素）生物合成和抗逆（耐盐碱）相关的关键酶基因提供支撑。通过转录组学和代谢组学的联合分析显示，正常条件下黑果枸杞中黄酮和类黄酮含量较高，相比于黑果枸杞盐胁迫显著提高了枸杞中的黄酮和类黄酮含量；另外，结果还表明枸杞中的盐响应基因主要富集在丝裂原活化蛋白激酶信号、氨基糖和核苷酸糖代谢、碳代谢和植物激素信号转导通路，而黑果枸杞中的盐响应基因主要与内质网中的碳代谢和蛋白质加工有关^[37]。基于转录组和代谢组数据联合分析，证实花青素类化合物在黑果枸杞成熟浆果中的含量要明显高于其他枸杞物种中的含量，而花青素生物合成相关基因在黑果枸杞中的表达量也要显著性高于其他枸杞物种^[41,47]。

此外，基于枸杞属植物中的转录组和代谢组数据，通过组装、拼接、比对等分析发现在黑果枸杞中存在一个调控花色苷合成代谢的 MYB 转录因子 *LrAN2*，其表达量随果实的发育而增加，类黄酮物质含量也随之增加，而该基因在宁夏枸杞中几乎不表达^[9,48]。自然群体中 *LrAN2* 的等位变异与黑色果实性状紧密关联，在烟草里过量表达 *LrAN2*，除根部外，其他组织部位均表现出紫黑色。通过多组学联

合分析,初步发现 *LrAN2* 转基因烟草中 185 个基因 (146 上调、39 个下调) 产生差异表达,其中类黄酮生物合成代谢途径差异最显著。

代谢组学可以批量获得基因表达的最终产物,反映了基因和蛋白表达的微小变化以及机体系统的生理和病理状态;蛋白质组学能够动态地描述基因调节,可获取某一时刻机体内所有表达蛋白。因此,将蛋白质组学和代谢组学进行关联分析,对基因表达的蛋白质和代谢物进行定量测定和差异比较,有助于进一步揭示基因表达调控网络和次生代谢物的生物合成代谢机制。在黑果枸杞耐盐机制研究中,学者利用蛋白质组学和代谢组学联合分析方法,分析了黑果枸杞愈伤组织在不同浓度盐胁迫下的蛋白

质和化学成分,阐释了差异性蛋白质基因表达主要富集于离子运输和能量代谢途径,并且盐胁迫有助于植株黄酮类化合物的合成与积累,缓解逆境带来的氧化损伤^[53]。

尽管目前组学技术已经在黑果枸杞中得以广泛应用,尤其集中在抗逆(耐盐)和果实发育过程中的花青素合成代谢(表 1),但是研究学者们对其进行的多组学联合研究还为之甚少。显然,单凭一种组学技术已经无法满足黑果枸杞适应与进化、花色苷差异成因解析等相关深层次的研究,因此,基于多组学联合分析阐明黑果枸杞次生代谢物(花青素、黄酮、生物碱等)合成调控机制、揭示黑果枸杞耐旱和抗盐碱机制将是今后枸杞属植物资源的研究重点。

表 1 组学技术在黑果枸杞资源研究中的应用

Table 1 Application of omics technology in *L. ruthenicum* resources

| 组学类型 | 研究领域及主要分析结果 | 文献 |
|----------------|--|----------------|
| 基因组学 | a: 叶绿体基因组总长约 154 952 bp, GC 含量 37.90%, 系统发育分析进一步验证了其归入茄科植物 | 19-22 |
| 转录组学 | b: 盐敏感基因主要富集于内质网的碳代谢和蛋白质加工有关的信号转导途径中; 盐胁迫促进花青素生物合成, 并启动耐盐胁迫的生理反应机制; c: 调控花青素合成代谢的 MYB 转录因子(尤其是 <i>LrAN2</i>), 其表达量随果实的发育而增加; 而 <i>LrAN2</i> 的功能多样性和高表达水平可能是成熟果实中花青素含量高的原因; 筛选出与类黄酮生物合成有关的 Unigene 45 个; 分离出了参与花青素生物合成的结构基因 | 29-31 32-40 |
| 代谢组学 | b: 盐胁迫下检测出 69 种差异代谢产物; ABA 和黄酮类化合物在枸杞属植物耐盐中发挥重要作用; 黑果枸杞黄酮含量显著高于枸杞, 提示前者比后者更耐盐; c: 果实成熟过程中存在 3 种花青素转运机制; 鉴定出 15 种花青素, 23 种黄酮代谢物; 成熟浆果中的次生代谢产物在种类、含量上与白果枸杞和宁夏枸杞存在显著性差异 | 29 33,49-50 |
| 蛋白质组学 | b: 鉴定出 862 个黑果枸杞蛋白质, 盐处理后检测出 165 个差异蛋白; 盐胁迫主要影响植株的能量代谢(13 个差异蛋白)与离子运输(4 个差异蛋白), 且有利于黄酮类化合物的大量合成, 缓解盐胁迫带来的氧化损伤 | 45 |
| 转录组学和代谢组学联合应用 | b: 盐响应基因主要与内质网中的碳代谢和蛋白质加工有关; c: 成熟浆果中花青素类化合物含量和花青素生物合成相关基因显著高于其他枸杞物种 | 29 33,39 |
| 蛋白质组学和代谢组学联合应用 | b: 差异性蛋白质基因表达主要富集于离子运输和能量代谢途径, 并且盐胁迫有助于植株黄酮类化合物的合成与积累, 缓解逆境(盐胁迫)带来的损害 | 45 |

a-叶绿体基因组 b-逆境胁迫(盐胁迫) c-果实发育涉及的花青素生物合成
a-chloroplast genome b-stress (salt stress) c-anthocyanin biosynthesis in fruit development

7 结语及展望

随着多组学和相应分子生物学技术的发展与渗透, 药用植物资源品质形成的探索不论在生态环境等外在因素, 还是基因、蛋白质与遗传分化的分子水平都有了一定的推进^[12,60-61]。基于多组学联合分析是药用植物次生代谢产物合成途径和资源品质差

异成因研究的重要技术^[62-63]。在进入大数据时代的背景下, 基于系统生物学研究模式和多组学研究思路, 能够为药用植物次生代谢物生物合成代谢调控、资源品质综合评价以及种质创新等相关科学问题的解决打下坚实的理论基础。

从已有的研究成果可以看出, 各组学应用在黑

果枸杞资源研究中已经取得了一定进展，为资源的品质差异、次生代谢产物合成途径、有效成分确定以及生境适宜性等研究提供了重要参考。然而，有关黑果枸杞资源评价、组学研究、品质差异及其与生态环境关系方面的研究仍然存在一些不足。主要表现在：(1) 很少有研究关注不同产区黑果枸杞次生代谢产物差异机制及生态环境对有效成分合成积累的影响，资源生境适宜性系统评价和区划研究基本处于空白。(2) 前期有关黑果枸杞组学研究主要集中在叶绿体基因组学和转录组学，缺乏蛋白质组

和代谢组及其组学间的整合分析，组学间数据交集的挖掘深度不够，且未实现多组学的真正融合。

综上所述，随着后续黑果枸杞全基因组数据的公布，并基于化学生物学分析和多组学联合应用，鉴定黑果枸杞次生代谢物生物合成过程中的关键酶和调控因子，深入解析主要有效成分花色苷合成调控机制(图3)，结合生态环境因子的相关性分析，将对探究黑果枸杞花色苷差异成因、资源品质形成过程和生境适宜性区划评价具有重要的理论指导作用，从而促进黑果枸杞资源健康可持续开发与利用。

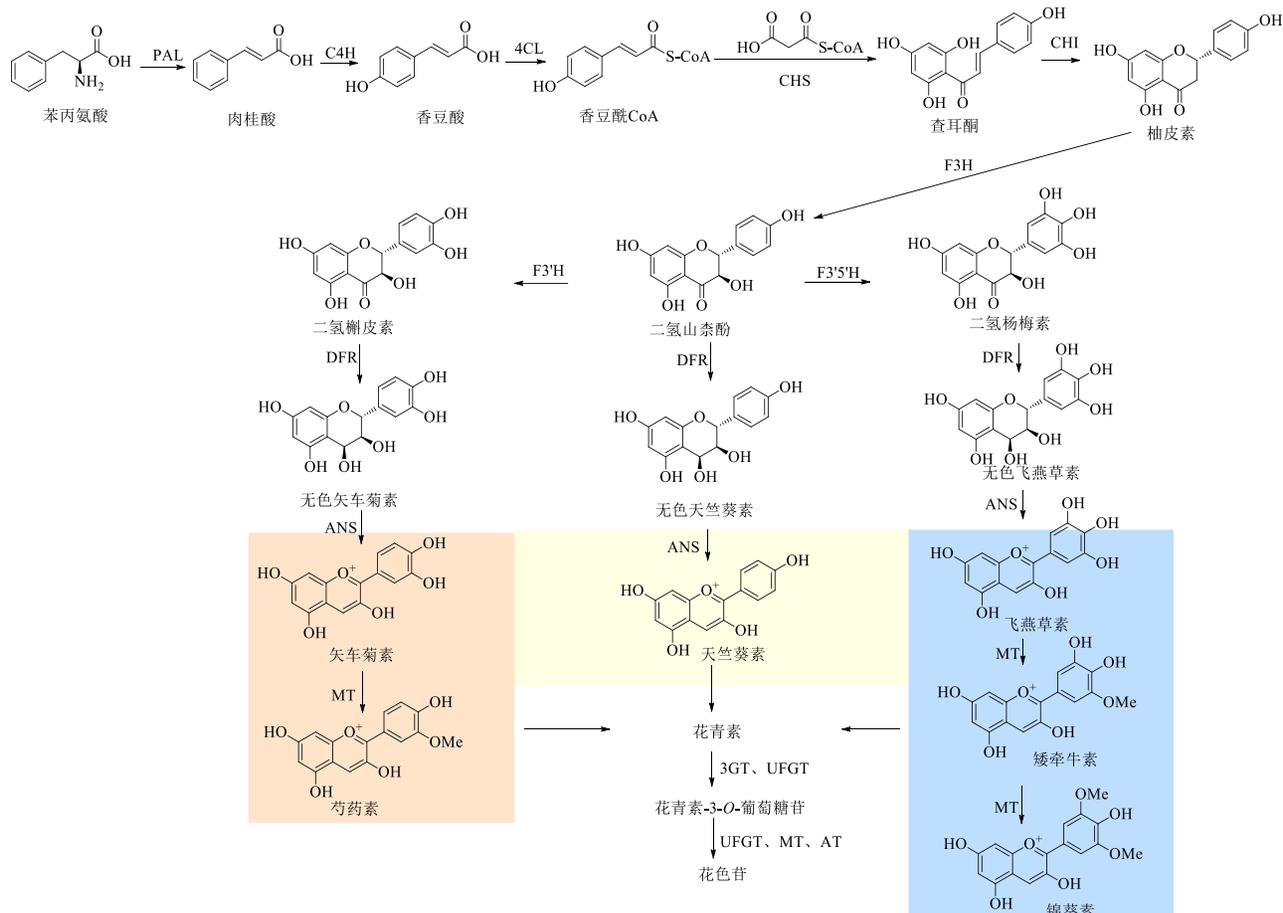


图3 黑果枸杞花色苷生物合成代谢途径

Fig. 3 Biosynthetic metabolism of anthocyanins in *L. ruthenicum*

PAL-苯丙氨酸裂解酶 C4H-肉桂酸-4-羟化酶 4CL-4-香豆酰 CoA 连接酶 CHS-查耳酮合成酶 CHI-查耳酮异构酶 F3H-黄酮醇-3-羟化酶 F3'H-类黄酮-3'-羟化酶 F3'5'H-类黄酮-3',5'-羟化酶 DFR-二氢黄酮醇还原酶 ANS-花青素合成酶 3GT-3-糖基转移酶 UFGT-类黄酮糖基转移酶 MT-甲基转移酶 AT-酰基转移酶

PAL-phenylalanine ammonia-lyase C4H-cinnamate 4-hydroxylase 4CL-4-coumarate CoA ligase CHS-chalcone synthase CHI-chalcone isomerase F3H-flavanone 3-hydroxylase F3'H-flavonoid 3'-hydroxylase F3'5'H-flavonoid 3',5'-hydroxylase DFR-dihydroflavonol 4-reductase ANS-anthocyanidin synthase 3GT-3-O-glucosyltransferase UFGT-UDP-glucose flavonoid glucosyltransferase MT-anthocyanin methyltransferase AT-anthocyanin acyltransferase

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 马丽娟, 霍鹏超, 孙梦茹, 等. 黑果枸杞化学成分和药理活性的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(22): 5884-

5893.

[2] Wang H Q, Li J N, Tao W W, et al. *Lycium ruthenicum* studies: Molecular biology, phytochemistry and pharmacology [J]. *Food Chem*, 2018, 240: 759-766.

- [3] Liu Z G, Liu B L, Wen H X, *et al.* Phytochemical profiles, nutritional constituents and antioxidant activity of black wolfberry (*Lycium ruthenicum* Murr.) [J]. *Ind Crops Prod*, 2020, 154: 112692.
- [4] 张弓, 陈莎莎, 周武, 等. 黑果枸杞的功用考证及研究进展 [J]. 华西药理学杂志, 2019, 34(6): 638-642.
- [5] Miller J S. Phylogenetic relationships and the evolution of gender dimorphism in *Lycium* (Solanaceae) [J]. *Syst Bot*, 2002, 27(2): 416-428.
- [6] Guo Y Y, Yu H Y, Kong D S, *et al.* Effects of drought stress on growth and chlorophyll fluorescence of *Lycium ruthenicum* Murr. seedlings [J]. *Photosynthetica*, 2016, 54(4): 524-531.
- [7] 袁海静, 安巍, 李立会, 等. 中国枸杞种质资源主要形态学性状调查与聚类分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(4): 627-633.
- [8] Liu Z G, Shu Q Y, Wang L, *et al.* Genetic diversity of the endangered and medically important *Lycium ruthenicum* Murr. revealed by sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2012, 45: 86-97.
- [9] Liu Z G, Dong B, Liu C, *et al.* Variation of anthocyanin content in fruits of wild and cultivated *Lycium ruthenicum* [J]. *Ind Crops Prod*, 2020, 146: 112208.
- [10] Mosher J J, Bowman B, Bernberg E L, *et al.* Improved performance of the PacBio SMRT technology for 16S rDNA sequencing [J]. *J Microbiol Methods*, 2014, 104: 59-60.
- [11] Zhang F, Wen Y, Guo X. CRISPR/Cas9 for genome editing: Progress, implications and challenges [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(R1): R40-R46.
- [12] 黄璐琦, 高伟, 周洁, 等. 系统生物学方法在药用植物次生代谢产物研究中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(1): 8-12.
- [13] 刘义飞, 胡志刚, 黄必胜, 等. 组学技术在中药种质资源遗传评价与创新中的应用 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2022, 24(4): 1315-1324.
- [14] 丰美静, 张恺恺, 陈段芬, 等. 多组学技术在红豆杉研究中的应用 [J]. 分子植物育种, 2022, 20(3): 840-846.
- [15] 甘青梅, 左振常, 吕也平, 杨文莲. 藏药“旁玛”的考证及生药学研究 [J]. 中国民族民间医药杂志, 1995, 4(1): 31-33.
- [16] 王晓宇, 陈鸿平, 银玲, 等. 中国枸杞属植物资源概述 [J]. 中药与临床, 2011, 2(5): 1-3.
- [17] 刘增根, 康海林, 岳会兰, 等. 黑果枸杞资源调查及其原花青素含量差异分析 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(7): 1713-1716.
- [18] 杨丽萍. 提档升级做强黑枸杞产业 [J]. 民生周刊, 2019(5): 78-79.
- [19] 张佳琪, 赵英力, 王浩宁, 等. 黑果枸杞研究进展及产业发展对策 [J]. 北方园艺, 2020(19): 134-140.
- [20] 刘增根. 黑果枸杞遗传多样性及可持续利用研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2014.
- [21] 阿力同·其米克, 王青锋, 杨春锋, 等. 新疆产药用植物黑果枸杞遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 植物科学学报, 2013, 31(5): 517-524.
- [22] Wang Z C, Yan Y Z, Nisar T, *et al.* Comparison and multivariate statistical analysis of anthocyanin composition in *Lycium ruthenicum* Murray from different regions to trace geographical origins: The case of China [J]. *Food Chem*, 2018, 246: 233-241.
- [23] Marian A J. Sequencing your genome: What does it mean? [J]. *Methodist Debakey Cardiovasc J*, 2014, 10(1): 3-6.
- [24] 张闻婷, 焦萌, 王继华. 药用植物基因组学研究进展 [J]. 广东农业科学, 2021, 48(12): 138-150.
- [25] Clarke J. Progress of chloroplast genome analysis [J]. *Prog Biochem Biophys*, 2008, 35(1): 1-8.
- [26] 樊守金, 郭秀秀. 植物叶绿体基因组研究及应用进展 [J]. 山东师范大学学报: 自然科学版, 2022, 37(1): 22-31.
- [27] 刘晶星. 宁夏枸杞和黑果枸杞叶绿体全基因组测序及基因注释分析 [D]. 北京: 中国科学院北京基因组研究所, 2013.
- [28] Yisilam G, Mamut R, Li J, *et al.* Characterization of the complete chloroplast genome of *Lycium ruthenicum* (Solanaceae) [J]. *Mitochondrial DNA B Resour*, 2018, 3(1): 361-362.
- [29] Wang C P, Jia G L, Zhu L Z, *et al.* The complete chloroplast genome sequence of *Lycium ruthenicum* (Solanaceae), a traditional medicinal plant in China [J]. *Mitochondrial DNA B Resour*, 2019, 4(2): 2495-2496.
- [30] Cui Y X, Zhou J G, Chen X L, *et al.* Complete chloroplast genome and comparative analysis of three *Lycium* (Solanaceae) species with medicinal and edible properties [J]. *Gene Rep*, 2019, 17: 100464.
- [31] McGettigan P A. Transcriptomics in the RNA-seq era [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2013, 17(1): 4-11.
- [32] 陈惠, 辛丽丽, 龚婕宁. 基于全转录组测序技术的转录组学在中医药领域的应用前景分析 [J]. 环球中医药, 2013, 6(10): 759-763.
- [33] 刘欢, 黄丽娜, 张奋强, 等. RNA-Seq 高通量测序技术在果树功能基因组学研究的应用进展 [J]. 生物技术进展, 2017, 7(2): 144-148.
- [34] Earthscan. The state of the world's land and water resources for food and agriculture: Managing systems at risk [J]. *Economic Bot*, 2012, 66(4): 418-419.

- [35] Mansour M M F, Ali E F. Evaluation of proline functions in saline conditions [J]. *Phytochemistry*, 2017, 140: 52-68.
- [36] Zhang Z Z, He K N, Zhang T, *et al.* Physiological responses of Goji berry (*Lycium barbarum* L.) to saline-alkaline soil from Qinghai region, China [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12057.
- [37] Qin X Y, Yin Y, Zhao J H, *et al.* Metabolomic and transcriptomic analysis of *Lycium chinese* and *L. ruthenicum* under salinity stress [J]. *BMC Plant Biol*, 2022, 22(1): 8.
- [38] Chen J H, Zhang D Z, Zhang C, *et al.* Physiological characterization, transcriptomic profiling, and microsatellite marker mining of *Lycium ruthenicum* [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2017, 18(11): 1002-1021.
- [39] Mo S Q, A B, Wang Z Q, *et al.* Spatio transcriptome uncover novel insight into the *Lycium ruthenicum* seedling tolerant to salt stress [J]. *Ind Crops Prod*, 2022, 177: 114502.
- [40] Ma Y J, Duan H R, Zhang F, *et al.* Transcriptomic analysis of *Lycium ruthenicum* Murr. during fruit ripening provides insight into structural and regulatory genes in the anthocyanin biosynthetic pathway [J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e0208627.
- [41] Li T T, Fan Y F, Qin H, *et al.* Transcriptome and flavonoids metabolomic analysis identifies regulatory networks and hub genes in black and white fruits of *Lycium ruthenicum* Murray [J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 1256.
- [42] 朱雪冰. 黑枸杞花青素合成代谢相关基因克隆及再生体系建立 [D]. 西宁: 青海师范大学, 2017.
- [43] 严莉, 王翠平, 陈建伟, 等. 基于转录组信息的黑果枸杞 MYB 转录因子家族分析 [J]. *中国农业科学*, 2017, 50(20): 3991-4002.
- [44] 彭勇, 陈尚武, 马会勤. 黑果枸杞果实成熟发育过程表达谱差异分析 [J]. *生物技术通报*, 2016, 32(11): 144-151.
- [45] 孟小伟, 牛赧, 马彦军. 黑果枸杞果实发育过程中转录组测序分析 [J]. *中南林业科技大学学报*, 2020, 40(9): 147-155.
- [46] 包雪梅, 胡娜, 宗渊, 等. 转录组学挖掘黑果枸杞中花青素生物合成代谢关键 bHLH 调控基因 [J]. *分子植物育种*, 2021, 7: 1-20.
- [47] Zeng S H, Wu M, Zou C Y, *et al.* Comparative analysis of anthocyanin biosynthesis during fruit development in two *Lycium* species [J]. *Physiol Plant*, 2014, 150(4): 505-516.
- [48] Zong Y, Zhu X B, Liu Z G, *et al.* Functional MYB transcription factor encoding gene AN2 is associated with anthocyanin biosynthesis in *Lycium ruthenicum* Murray [J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 169.
- [49] Golaz O, Wilkins M R, Sanchez J C, *et al.* Identification of proteins by their amino acid composition: An evaluation of the method [J]. *Electrophoresis*, 1996, 17(3): 573-579.
- [50] Larance M, Lamond A I. Multidimensional proteomics for cell biology [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16(5): 269-280.
- [51] 江小羊, 翟晓巧. 植物蛋白质组学技术的研究进展 [J]. *河南林业科技*, 2021, 41(2): 17-20.
- [52] 付强, 赵杰宏, 刘育辰, 等. 药用植物蛋白质组学的研究进展 [J]. *贵州农业科学*, 2018, 46(10): 16-19.
- [53] 汪亚娟. 基于 iTRAQ 技术的盐 (NaCl) 胁迫下黑果枸杞蛋白质组学研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- [54] 许国旺, 路鑫, 杨胜利. 代谢组学研究进展 [J]. *中国医学科学院学报*, 2007, 29(6): 701-711.
- [55] 范仕成, 高悦, 张慧贞, 等. 非靶向和靶向代谢组学在药物靶点发现中的应用 [J]. *药学进展*, 2017, 41(4): 263-269.
- [56] 王斌, 张腾霄, 赵倩, 等. 植物代谢组学在药用植物中的应用进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(5): 28-31.
- [57] 李丽, 冯华峰, 周淳, 等. 植物乳杆菌发酵黑果枸杞的代谢组学研究 [J]. *化学试剂*, 2022, 44(8): 1088-1096.
- [58] 彭玉娇, 崔学宇, 邵元元, 等. 利用 LC-MS 技术解析黑果枸杞、红果枸杞代谢物的差异 [J]. *食品与生物技术学报*, 2021, 40(9): 56-63.
- [59] 刘锋. 不同种重楼间的差异蛋白质组学和代谢组学研究 [D]. 北京: 军事科学院, 2019.
- [60] Saito K, Matsuda F. Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 463-489.
- [61] 王程成, 赵慧, 严颖, 等. 道地药材品质形成机制的组学研究思路 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(11): 2407-2412.
- [62] Zhu G T, Wang S C, Huang Z J, *et al.* Rewiring of the fruit metabolome in tomato breeding [J]. *Cell*, 2018, 172(1/2): 249-261.e12.
- [63] Wang Z, Cui Y, Vainstein A, *et al.* Regulation of fig (*Ficus carica* L.) fruit color: Metabolomic and transcriptomic analyses of the flavonoid biosynthetic pathway [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1990.

[责任编辑 崔艳丽]