

吴雅琼, 张春红, 杨海燕, 等. 基于代谢组学分析黑莓、黑树莓果实代谢物的差异[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(3): 790-797.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.03.026

基于代谢组学分析黑莓、黑树莓果实代谢物的差异

吴雅琼¹, 张春红¹, 杨海燕¹, 闫连飞¹, 李维林², 吴文龙¹

(1.江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014; 2.南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037)

摘要: 为了探究黑莓、黑树莓成熟果实中主要代谢物的差异, 利用液相色谱-质谱技术对其进行比较分析。结果表明, 在正离子、负离子模式下分别存在1 288个、971个具有显著表达差异的代谢物, 通过 KEGG 数据平台分析发现, 代谢通路是富集差异表达代谢物数量最多的(共 104 个), 其次是次生代谢物合成通路(有 65 个差异表达代谢物)。此外, 黄酮和黄酮醇生物合成通路也是主要差异代谢物显著富集的代谢途径之一, 包含 11 个差异代谢物。而在花色苷合成通路上, 与黑莓果实相比, 黑树莓果实中有 6 个代谢物表达量下调, 而矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷代谢物表达量上调。在异黄酮合成通路中, 与黑树莓果实相比, 黑莓果实中的(*S*)-柚皮素相对表达量增加了 2.7 倍。研究结果为更好地了解黑树莓、黑莓果实代谢物的异同和高效利用悬钩子属果实中黄酮、花色苷等次生代谢物提供理论依据。

关键词: 黑莓; 黑树莓; 黄酮; 差异代谢物; 合成通路

中图分类号: S663.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)03-0790-08

Metabolomics analysis of differentially expressed metabolites in blackberry and black raspberry fruits

WU Ya-qiong¹, ZHANG Chun-hong¹, YANG Hai-yan¹, LYU Lian-fei¹, LI Wei-lin², WU Wen-long¹

(1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Co-Innovation Center for the Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: To explore the differences of main metabolites between mature fruits of black raspberry and blackberry, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) was used to compare and analyze. The results showed that there were 1 288 and 971 metabolites with significant differences in positive and negative ion modes, respectively. Through the analysis of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) data platform, it was found that metabolic pathways were the most abundant (104 differentially expressed metabolites), followed by secondary biosynthesis (65 differentially expressed metabolites). In addition, flavone and flavonol biosynthesis was also one of the major metabolic pathways with significant enrichment, including 11 differentially expressed metabolites. In the anthocyanin biosynthesis pathway, compared with the mature fruit of blackberry, there were six differentially expressed metabolites down-regulated in the mature fruit of black raspberry. The expression level of cyanidin-3-*O*-glucoside metabolites was up-regulated in the black raspberry. In the isoflavonoid biosynthesis pathway, the relative expression of (*S*)-

naringenin in blackberry fruit was 3.7 times as much as that in black raspberry. The results can provide a theoretical basis for better understanding the similarities and differences of metabolites in black raspberry and blackberry fruits, and efficient utilization of secondary metabolites such as flavonoids and anthocyanins in *Rubus* fruits.

Key words: blackberry; black raspberry; flavonoid; differentially expressed metabolites; biosynthesis pathway

收稿日期: 2021-10-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(32101566); 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20210165); 江苏省中国科学院植物研究所博士人才科研启动基金项目(JIBTF202105)

作者简介: 吴雅琼(1992-), 女, 江苏南京人, 博士, 助理研究员, 主要从事小浆果遗传育种、果实营养品质和基因组学方面的研究。(E-mail) ya_qiong@126.com

通讯作者: 李维林, (E-mail) wll@njfu.edu.cn; 吴文龙, (E-mail) 1964wwl@163.com

黑莓(*Rubus fruticosus* L.)和黑树莓(*Rubus occidentalis* L.)都是蔷薇科(Rosaceae)悬钩子属(*Rubus*)的多年生灌木,亦是重要的小浆果类果树^[1-4]。黑树莓的栽培起源于欧洲,而黑莓原产于北美洲东部和欧洲。黑莓最早由江苏省中国科学院植物研究所于1986年引入国内,经过30多年的研究与推广,目前已遍及全国各地,北起北京市,南到广东省北部,东起东海之滨,西至云南省山地。悬钩子属植物果实中都含有丰富的黄酮、花色苷、糖类、有机酸、维生素和矿物质等营养成分^[1,5],具有抗氧化、抗肿瘤等药用价值^[4,6]。

核磁共振(Nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)、稳定性同位素、气相色谱-质谱联用(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)和液相色谱-质谱联用(Liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)等技术是近年来常用于检测代谢物的方法,其中LC-MS技术以其灵敏、高效、快速、检测范围广泛等特点而在植物活性成分的分析检测、植物品种和产地区分、果实品质差异分析等方面得到广泛应用^[4,7-8]。Wu等^[7]采用GC-MS、LC-MS技术对东京野茉莉(*Styrax tonkinensis*)种仁发育过程中的代谢物变化规律进行分析。刘龙桀等^[9]基于GC-MS技术分析东北红豆杉(*Taxus cuspidata*)野生种与栽培种的代谢物差异。高静怡等^[10]利用非靶向代谢组学对与砂梨水心病相关的不同代谢物进行差异分析。Wu等^[4]利用LC-MS技术对悬钩子属5个不同品种的成熟果实中与呈色相关的代谢物进行分析,得出其成熟果实呈色与黄酮类组分密切相关。

黑莓、黑树莓果实是黄酮等具有药用价值的多酚类化合物的提取物来源以及提取花色苷的重要原材料,目前已有相关研究对不同黑莓品种或同一黑莓品种不同果实发育阶段的总酚、总黄酮和6种常见花色苷类物质进行分析^[11],但尚未有针对性地比较黑莓、黑树莓果实存在的初生代谢产物和次生代谢产物种类和组分含量差异的研究。为了有针对性地研究黑莓、黑树莓代谢物的差异,本研究通过非靶向代谢组学技术分析黑莓、黑树莓果实中与主要营养成分合成相关的代谢物异同,拟通过对参与生物体新陈代谢和维持正常功能的相对分子质量小于1 000的代谢物进行定量分析,并对已鉴定的代谢物进行分类,同时分析差异代谢物相关代谢通路信息,确定主要富集代谢途径,从而阐明其代谢物的变化

规律^[12-14],以期减少重要代谢物提取和育种相关技术研究的盲目性,为今后悬钩子属果实营养成分提取和药用价值的开发与利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

于2020年6月采集黑莓品种Chester和黑树莓品种Bristol的成熟果实,每个品种设3个生物学重复,将采集的果实暂时放在液氮罐中,带回实验室后再放入-80℃超低温冰箱中备用。本研究所用黑莓、黑树莓品种均种植于江苏省中国科学院植物研究所溧水白马科研基地(119°09'E, 31°35'N)。

1.2 试验方法

提取代谢物的具体方法:各称量200 mg黑莓Chester、黑树莓Bristol果实样品加入2 ml无酶离心管中,加入0.6 ml L-2-氯苯丙氨酸(4 mg/L),涡旋振荡30 s后在高通量组织研磨仪器中于50 Hz研磨60 s,在室温下超声提取15 min,于25℃、12 000 r/min高速离心10 min。分别取300 μl上清液,经0.22 μm膜过滤后,将滤液移入检测瓶内进行LC-MS检测。用于LC-MS上机检测的仪器为Thermo Vanquish,具体的色谱、质谱条件参考Wu等^[4]的报道。

1.3 多元统计分析

为了初步显示不同样本组间的差异,首先对所有样本采用无监督降维方法——主成分分析(Principal component analysis, PCA)法进行统计分析。然后基于有监督的降维方法,采用偏最小二乘判别分析(Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)法和正交偏最小二乘判别分析(Orthogonal projection to latent structures-discriminant analysis, OPLS-DA)法来更好地区分2组样品的代谢组学特征和类别,具体参照Yue等^[15]的方法。

1.4 差异代谢物分析

采用(O)PLS模型的变量投影重要指标(VIP)评分对黑莓、黑树莓2组间最有区别/差异的代谢物进行排序。当 t 检验的 $P < 0.06$ 且 $VIP \geq 1$ 时,认为2组样品之间的代谢产物存在差异,即存在差异代谢物。

1.5 KEGG 通路分析

京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)是主要研究基因组、化学和系统功能信息的公共数据库,不仅包括基因信息,还包括代谢物信息。代谢产物被映射到

KEGG 代谢途径进行途径分析和富集分析。通过途径富集分析发现,与整个背景相比,差异代谢产物中的代谢途径或信号转导途径明显得到富集^[16]。经错误发现率(False discovery rate, FDR)校正,计算的 P 值取 $FDR \leq 0.05$ 作为阈值,满足这一条件的途径被定义为差异代谢物中显著富集的途径。

2 结果与分析

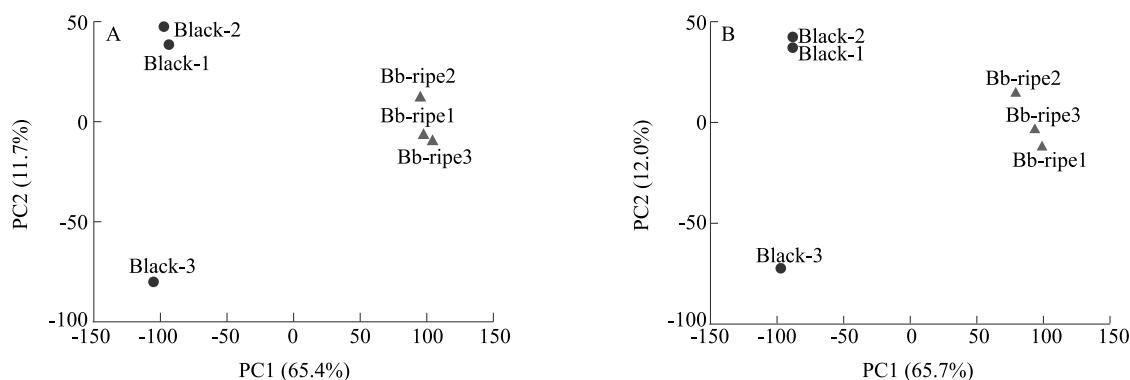
2.1 样本质量控制和定性、定量分析

首先对黑莓和黑树莓果实的所有代谢物进行峰识别、峰过滤和峰对齐,得到质核比、保留时间和峰面积等信息的数据矩阵,再根据精确相对分子质量(误差 $\leq 1.5 \times 10^{-5}$)进行代谢物的鉴定,后续根据 MS/MS 碎片模式比对至 Human Metabolome Database (HMDB, <http://www.hmdb.ca>)、METLIN (<http://metlin.scripps.edu>)、Massbank (<http://www.massbank.jp/>)、LipidMaps (<http://www.lipidmaps.org>)、mzCloud (<https://www.mzcloud.org>) 数据库。代谢物的鉴定结果显示,在正离子模式下存在 17

906 个峰,其中 15 788 个峰对应无法定性的物质,从二级谱图(MS2)中鉴定到 413 个已知代谢物,从一级谱图(MS1)中鉴定到 1 705 个已知代谢物。在负离子模式下存在 15 035 个峰,其中 13 946 个峰对应无法定性的物质,从二级谱图、一级谱图中分别鉴定出 194 个、895 个已知代谢物。

2.2 代谢物的多元统计分析

研究结果表明,在正离子模式下,第一主成分(PC1)的方差贡献率为 65.4%,第二主成分(PC2)的方差贡献率为 11.7%,共解释了 77.1% 的原始变量信息(图 1A)。在负离子模式下,前 2 个主成分共解释了 77.7% 的原始变量(PC1 的方差贡献率为 65.7%,PC2 的方差贡献率为 12.0%)(图 1B)。由图 1A(正离子模式)、图 1B(负离子模式)可以看出,黑树莓 1 和黑树莓 2 间的代谢物差异较小,黑树莓 3 与黑树莓 1、黑树莓 2 间存在轻微的分散,而黑莓组的 3 个生物学重复间的代谢物差异较小。总体可见,不同组间的代谢物基本能够得到区分,组内代谢物的差异小于组间差异。



Black: 黑树莓; Bb-ripe: 黑莓。

图 1 正(A)、负(B)离子模式下黑树莓、黑莓样品的主成分分析(PCA)得分

Fig.1 Principal component analysis (PCA) scores of black raspberry and blackberry samples in positive (A) and negative (B) ion modes

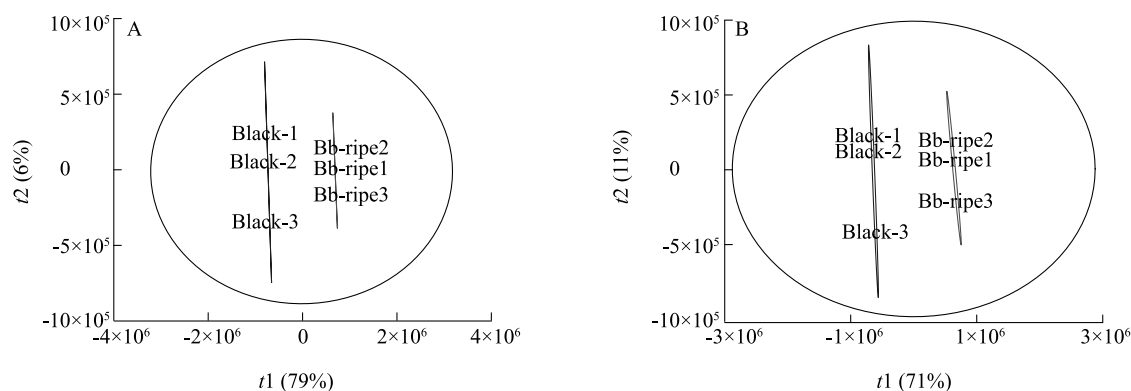
PLS-DA 可以使组间区分效果最优化,有利于寻找差异代谢物。本研究发现,在正离子模式下,黑树莓、黑莓果实代谢物符合 $R^2X=0.853$, $R^2Y=1$, $Q^2Y=0.998$ (R^2X 、 R^2Y 分别表示所建模型对 X 、 Y 矩阵的解释率, Q^2 表示模型的预测能力)(图 2A);在负离子模式下,符合 $R^2X=0.827$, $R^2Y=0.999$, $Q^2Y=0.992$ (图 2B),这 3 个模型的值均大于 0.8,符合我们对试验数据模型的预期,说明本研究建立的 PLS-DA 模型参数合理且稳定,可用于后续代谢物的相关性分析。黑树莓在图 2 的置信区左侧,而黑莓在

图 2 的置信区右侧,说明该 PLS-DA 模型能够有效区分这 2 种悬钩子属小浆果品种。

OPLS-DA 结合了正交信号校正(OSC)、PLS-DA 2 个方法,通过 OPLS-DA 建模分析同样得出,黑树莓在置信区左侧,而黑莓在置信区右侧(图 3A、图 3D),与 PLS-DA 模型的分析结果类似。黑树莓、黑莓的 OPLS-DA 模型有 2 个主成分,在正离子模式下, $R^2X=0.853$, $R^2Y=1.000$, $Q^2Y=0.997$ (图 3A);在负离子模式下, $R^2X=0.827$, $R^2Y=0.999$, $Q^2Y=0.994$ (图 3D),这 3 个模型的值均大于 0.6,说明建立的 OPLS-DA 模型能够有

效显示黑树莓、黑莓的代谢产物的差异。通过置换验证 OPLS-DA 模型,得出 OPLS-DA 模型的可靠性较高(图 3B、图 3E)。此外,载荷图有助于找出对黑莓和黑

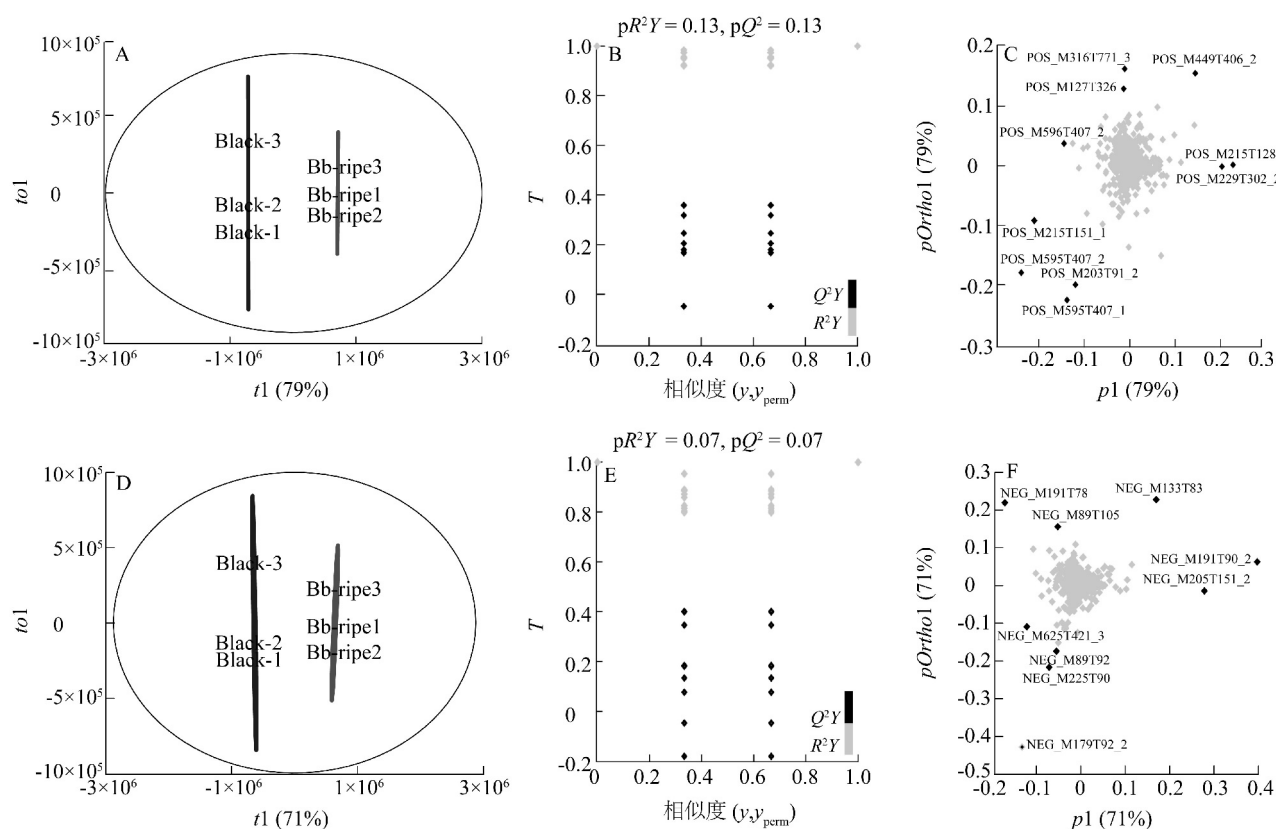
树莓果实组间代谢物模式变化贡献最大的代谢物,在横坐标方向上远离原点的变量对区分这 2 组样本的贡献最大(图 3 C、图 3F)。



Black:黑树莓;Bb-ripe:黑莓;t1:主成分 1 的得分;t2:主成分 2 的得分。椭圆形区域内为置信区。

图 2 正(A)、负(B)离子模式下黑树莓、黑莓的偏最小二乘判别分析(PLS-DA)得分

Fig.2 Partial least squares-discrimination analysis (PLS-DA) scores of black raspberry and blackberry in positive (A) and negative (B) ion modes



A、D 分别为正、负离子模式下黑莓、黑树莓的 OPLS-DA 得分,B、E 分别为正、负离子模式下黑莓、黑树莓的置换检验结果,C、F 分别为正、负离子模式下黑莓、黑树莓的载荷,其中编号表示代谢物编号。t1:主成分得分;to1:正交成分;pR²Y、pQ² 分别是对 R²Y、Q² 进行置换验证得到的值;pOrtho1 为 OPLS-DA 的 t1 得分;T:置换值。

图 3 黑树莓、黑莓的正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)得分、置换检验结果和载荷

Fig.3 Orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) score, displacement test and loadings plots of black raspberry and blackberry

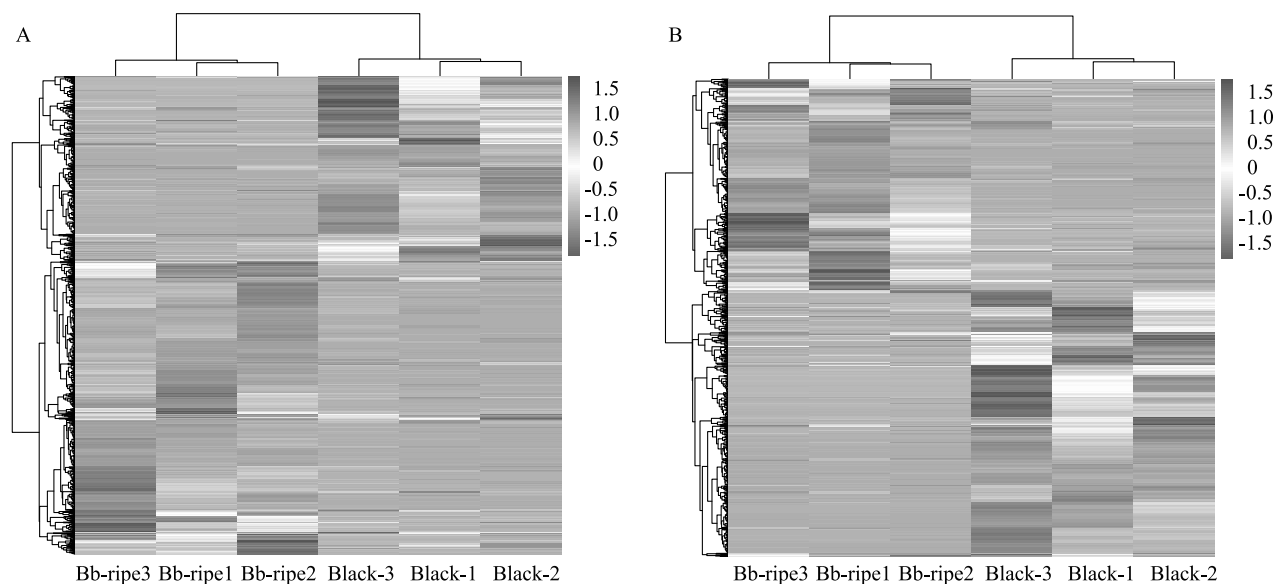
2.3 差异代谢物的筛选和聚类

由于代谢组数据具有多维且某些变量间呈高度相关的特点,代谢物的筛选过程往往比转录组中差异表达基因的分析更加复杂。基于此,我们结合单变量、多变量多元统计方法挖掘差异代谢物,对黑莓、黑树莓成熟果实中的差异代谢物进行数据的 *Z*-core 标准化,然后进行聚类分析。由图 4 可以看出,在正离子模式下,与黑莓相比,黑树莓有 790 个代谢物的表达量上调,498 个代谢物的表达量下调,共有 1 288 个差异代谢物;在负离子模式下共有 971 个差异代谢物(与黑莓相比,黑树莓有 430 个代谢物的表达量上调,有 541 个代谢物的表达量下调)。由此可见,不同悬钩子属品种间存在不同的初生、次生代谢产物积累差异。

2.4 差异代谢物通路分析

通过 KEGG 数据平台对黑莓、黑树莓果实的差异代谢物进行代谢通路的差异富集分析,发现这些差异代谢物在 84 个 KEGG 通路中均有富集,笔者对所有差异代谢物中富集程度排名前 20 的代谢通路进行分析,发现在排名前 12 的富集通路中,每条路径均存在 10 个以上的差异代谢物。除了 21 个差异代谢物富集在 ABC 转运蛋白质(ko02010, ABC transporters)通路[属于环境信号处理类别(Environmental information processing class)],13 个差异代谢物富集在氨酰-RNA 合

成(ko00970, Aminoacyl-tRNA biosynthesis)通路[属于遗传信号处理类别(Genetic information processing class)]外,其余 18 个显著富集差异代谢物的通路均属于代谢物质类别(Metabolism class)(图 5)。进一步分析发现,代谢通路(Metabolic pathways)是差异表达代谢物富集数量最多的,有 104 个差异表达代谢物,其次是次生代谢物的生物合成(Biosynthesis of secondary metabolites)通路,有 65 个差异表达代谢物。有趣的是,黄酮和黄酮醇生物合成(Flavone and flavonol biosynthesis)通路也是主要差异代谢物富集的代谢途径之一,包含 11 个主要的差异表达代谢物,以黑莓果实为对照组,黑树莓果实中有 5 个代谢物的表达量下调,6 个代谢物的表达量上调。此外,在花色苷合成(Anthocyanin biosynthesis)通路中,与成熟黑莓果实相比,香豆素(Pelargonidin)、香豆素 3-(6-*p*-咖啡酰基)-葡萄糖苷[Pelargonidin 3-(6-*p*-caffeoyl)-glucoside]、紫草苷-5-葡萄糖苷-3-琥珀酸酯(Pelargonidin-5-glucoside-3-sambubioside)、矢车菊素-3-芸香糖苷(Cyanidin-3-rutinoside)、矢车菊素-3-琥珀酸酯(Cyanidin-3-sambubioside)、花青苷(Cyanin)这 6 个差异代谢物的表达量下调,而矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷(Chrysanthemin)代谢物的表达量上调。在异黄酮合成(Isoflavonoid biosynthesis)通路中,与黑树莓果实相比,黑莓果实中(*S*)-柚皮素(Naringenine)相对表达量增加了 2.7 倍。



A: 正离子模式; B: 负离子模式。Black: 黑树莓; Bb-ripe: 黑莓。

图 4 黑树莓、黑莓间的差异代谢物热点图

Fig.4 Hot map of differentially expressed metabolites between black raspberry and blackberry

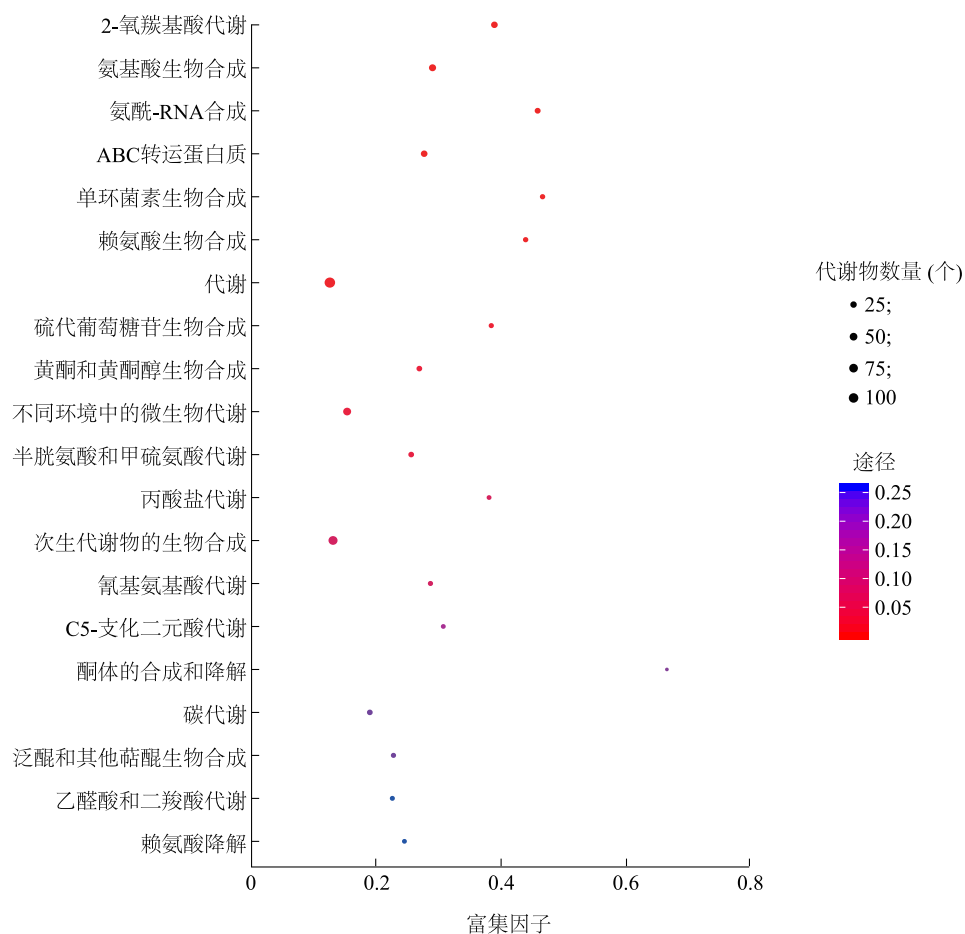


图5 黑莓、黑树莓差异代谢物的 KEGG 富集分析(排名前 20)

Fig.5 KEGG enrichment analysis of differentially expressed metabolites in blackberry and black raspberry

3 讨论与结论

代谢组学是近年来发展较为迅速的一门组学,代谢组被认为是连接基因组和表型的桥梁,可为解析动植物的代谢途径和分子生化机制提供新的思路^[17-19]。由于化学结构与功能上的差异,代谢物主要分为初生代谢物和次生代谢物。研究发现,大多数初生代谢物是植物产量、品质变化的基础,亦是植物生长发育所必需的物质^[19]。次生代谢物虽然不是植物生命活动所必需的物质,但当植物遭受外界逆境胁迫和病虫害危害时,次生代谢物对维持植物体内物质的动态平衡具有至关重要的作用^[19]。不同物种间的次生代谢物的结构、丰度存在着较大差异,不同组织间次生代谢物的含量、富集程度也存在显著差异^[20]。

悬钩子类果树因其果实中含有丰富的类黄酮、

花色苷等多酚类物质而闻名,具有较高的营养保健和药用价值^[2, 4, 21-24]。前人对黑莓、黑树莓的研究多集中在不同营养物质的积累模式或不同处理下代谢物的变化方面^[14],大多数研究仅对单一的物质进行研究,未有关于果实整体代谢水平的系统研究。基于此,本研究重点对黑树莓、黑莓成熟果实进行全面的代谢图谱分析,结果发现,在正离子模式下共有 1 288 个差异代谢物,在负离子模式下共有 971 个差异代谢物。由此可见,黑莓、黑树莓成熟果实中的代谢物存在较大差异。

PCA 和热点聚类分析是用来评价生物学重复性是否可靠的方法^[25]。本研究得出,黑树莓、黑莓组内的重复样本最先聚为一类,说明样本的重复性较好,数据分析结果可靠。有研究发现,KEGG 代谢通路的富集分析结果可为植物代谢过程中复杂的生物活动研究提供有效的参考信息^[26]。本研究通过

对黑莓、黑树莓的差异代谢物进行 KEGG 代谢通路差异富集分析,得出 84 个 KEGG 通路均有富集,可能与果实成熟发育过程中代谢物不断积累有关,且前 12 个富集通路的每条路径均存在 10 个以上的差异代谢物。有趣的是,差异代谢物富集数量最多(104 个)的是代谢通路,其次为次生代谢物(65 个)的生物合成通路。可能由于初生代谢物的不断积累,为次生代谢物的合成和积累提供了物质和能量,使得次生代谢物合成通路中的代谢物大量富集。

黑树莓、黑莓果实均为提取天然花色苷类色素的原材料^[27-31]。本研究发现,香豆素、香豆素 3-(6-*p*-咖啡酰基)-葡萄糖苷、紫草苷-5-葡萄糖苷-3-琥珀酸酯、矢车菊素-3-芸香糖苷、矢车菊素-3-琥珀酸酯、花青苷等 6 个代谢物在成熟黑莓果实中的含量显著高于成熟黑树莓果实,今后若要大量提取这 6 种代谢物,应该选择成熟的黑莓果实。矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷在黑树莓成熟果实中含量较高,在提取该成分时可优先考虑采用黑树莓。综上,本研究揭示的差异代谢物为今后高效利用悬钩子属果实中某一化学组分或营养成分如何优先选择含量较高的品种提供了现实依据,同时为今后高效利用黄酮、花色苷等次生代谢物提供了理论基础。

参考文献:

- [1] THOLE V, BASSARD J E, RAMÍREZ-GONZÁLEZ R, et al. RNA-seq, de novo transcriptome assembly and flavonoid gene analysis in 13 wild and cultivated berry fruit species with high content of phenolics[J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 995.
- [2] WU Y Q, ZHANG C H, YANG H Y, et al. Selection and validation of candidate reference genes for gene expression analysis by RT-qPCR in *Rubus*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(19): 10533.
- [3] FOSTER T M, BASSIL N V, DOSSETT M, et al. Genetic and genomic resources for *Rubus* breeding: a roadmap for the future[J]. Horticulture Research, 2019(1): 260-268.
- [4] WU Y Q, ZHANG C H, HUANG Z J, et al. The color difference of rubus fruits is closely related to the composition of flavonoids including anthocyanins[J]. LWT, 2021, 149: 111825.
- [5] ZURN J D, DRISKILL M, JUNG S, et al. A Rosaceae family-level approach to identify loci influencing soluble solids content in blackberry for DNA-informed breeding[J]. G3-Genes Genomes Genetics, 2020, 10(10): 3729-3740.
- [6] KRZEPILKO A, PRAZAK R, SWIECILO A. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of raspberry, blackberry and raspberry-blackberry hybrid leaf buds[J]. Molecules, 2021, 26(2): 327.
- [7] WU Q, ZHAO X, CHEN C, et al. Metabolite profiling and classification of developing *Styrax tonkinensis* kernels[J]. Metabolites, 2020, 10(1): 21.
- [8] 张舒,王长远,冯玉超,等. 气相色谱-质谱联用代谢组学技术分析不同产地稻米代谢物[J]. 食品科学, 2021, 42(8): 206-213.
- [9] 刘龙桀,吴可心,刁云飞,等. 基于 GC-MS 分析东北红豆杉野生种与栽培种的代谢差异[J]. 植物研究, 2021, 41(5): 798-806.
- [10] 高静怡,马浩,刘东贺,等. 非靶向代谢组学对砂梨水心病不同代谢物质的差异分析[J]. 分子植物育种, 2021, 19(24): 8297-8304.
- [11] 吴文龙,李维林,闫连飞,等. 黑莓引种栽培与利用[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2010: 1-8.
- [12] WECKWERTH W. Metabolomics in systems biology[J]. Annual Review of Plant Biology, 2003, 54: 669-689.
- [13] 路正禹,王堃,李任任,等. 基于组学技术探究甜菜耐盐机理研究进展[J]. 中国农学通报, 2021, 37(15): 92-98.
- [14] KIM S, KIM J, KIM N, et al. Metabolomic elucidation of the effect of sucrose on the secondary metabolite profiles in *Melissa officinalis* by ultraperformance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. ACS Omega, 2020, 5: 33186-33195.
- [15] YUE S J, ZHAO D, PENG C X, et al. Effects of theabrownin on serum metabolites and gut microbiome in rats with a high-sugar diet[J]. Food & Function, 2019, 10(11): 7063-7080.
- [16] KANEHISA M, ARAKI M, GOTO S, et al. KEGG for linking genomes to life and the environment[J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36: 480-484.
- [17] 张改君,苗静,郭丽颖,等. 多组学联用在中药作用机制研究中的应用[J]. 中草药, 2021, 52(10): 3112-3120.
- [18] FAN M C, LIAN W J, LI T T, et al. Metabolomics approach reveals discriminatory metabolites associating with the blue pigments from *Vaccinium bracteatum* thunb. leaves at different growth stages[J]. Industrial Crops & Products, 2020, 147: 112252.
- [19] FU A Z, WANG Q, MU J L, et al. Combined genomic, transcriptomic, and metabolomic analyses provide insights into chayote (*Sechium edule*) evolution and fruit development[J]. Horticulture Research, 2021, 8(1): 35.
- [20] SCOSSA F, BROTMAN Y, ABREU L F, et al. Genomics-based strategies for the use of natural variation in the improvement of crop metabolism[J]. Plant Science, 2016, 242(S1): 47-64.
- [21] WU Y Q, GUO J, ZHOU Q, et al. De novo transcriptome analysis revealed genes involved in flavonoid biosynthesis, transport and regulation in *Ginkgo biloba*[J]. Industrial Crops & Products, 2018, 124: 226-235.
- [22] WU Y Q, ZHANG C H, WU W L, et al. Genome-wide identification and analysis of the MADS-box gene family and its potential role in fruit ripening in black raspberry (*Rubus occidentalis* L.)[J]. Journal of Berry Research, 2021, 11(2): 301-315.

- [23] 吴林,张强,王颖,等. 中国树莓科学研究和产业发展的回顾与展望[J]. 吉林农业大学学报, 2021, 43(3): 265-274.
- [24] 蔡成林,黄庭海,张青峰. 红莓和黑莓叶黄酮类化合物抗氧化活性的比较研究[J]. 生物化工, 2020, 6(6): 33-35.
- [25] LIU H, LI H F, GU J Z, et al. Identification of the candidate proteins related to oleic acid accumulation during peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed development through comparative proteome analysis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(4): 1235.
- [26] LI X R, PEI G S, LIU L S, et al. Metabolomic analysis and lipid accumulation in a glucose tolerant *Cryptocodinium cohnii* strain obtained by adaptive laboratory evolution[J]. Bioresource Technology, 2017, 235: 87-95.
- [27] 唐晓妹,胡博,陈雪梅,等. 6种小型浆果营养成分及DPPH自由基清除活性比较[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(20): 182-187.
- [28] 黄佳楠,管福琴,李林蔚,等. 黑果枸杞果实提取物中花色苷对酪氨酸酶活性的抑制作用初探[J]. 植物资源与环境学报, 2020, 29(3): 75-77.
- [29] 戴意强,吴寒,单成俊,等. 蓝莓酶解工艺优化研究[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(17): 219-224.
- [30] 延海莹,乔乐克,张京良,等. 树莓营养及活性研究进展[J]. 食品工业, 2018, 39(7): 281-284.
- [31] 赵慧芳,吴文龙,李维林,等. 黑莓 Hull、Chester 果实生长及品质形成过程的分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(8): 3199-3204.

(责任编辑:徐艳)