

枣果实不同发育阶段蛋白质组动态研究

陈 昕¹,陈蕊红²,黄 建^{1*}

(1. 西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100;
2. 延安大学 生命科学学院 陕西省黄土高原特色植物与生态重点实验室,陕西 延安 716000)

摘 要:枣果实在发育和成熟过程中涉及多种复杂的生理生化变化。为了解枣果实在发育过程中蛋白质组的变化情况,利用液质联用(LC-MS)技术对主栽制干枣品种——骏枣幼果期、膨大期、白熟期、初红期和全红期 5 个阶段的果实进行了非标记定量蛋白质组动态变化研究。结果表明,各时期果实与其前一阶段相比分别有差异表达蛋白 189、356、82、69 个。基因本体(GO)注释结果显示:幼果与膨大果的差异蛋白主要富集在核酸代谢过程,膨大期果实与白熟果的差异蛋白主要富集在碳水化合物代谢过程。从 5 个阶段的果实中分别鉴定到 604、186、91、83、189 个特异表达蛋白。Mercator 注释和 KEGG 通路注释结果显示,幼果期特异表达蛋白主要参与了 RNA 转运通路。加权基因共表达网络(WGCNA)分析显示,幼果期高表达蛋白主要与核糖体合成相关。总之,枣果实在白熟期以前与细胞分裂和膨大相关的蛋白表达量和富集程度高,从白熟期开始与碳水化合物积累相关的蛋白质表达上调。本研究从蛋白质组学水平阐明了枣果实发育成熟过程中蛋白质组分的动态变化,为提高枣果实品质奠定了理论基础。

关键词:枣;果实成熟;非标记定量蛋白质组;果实膨大;果实糖积累

中图分类号:S718.43 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2019)04-0082-09

Comparative Proteomic Analysis on Chinese Jujube Fruit at Different Developmental and Ripening Stages

CHEN Xin¹, CHEN Rui-hong², HUANG Jian^{1*}

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; 2. College of Life Science, Shaanxi Key Lab. of Characteristic Plants and Ecology of Loess Plateau, Yan'an University, Yan'an 716000, Shaanxi, China)

Abstract: In order to understand the dynamic process of the proteomics during the progress of jujube fruit development and ripening, we quantitatively analyzed the proteomics of jujube fruits at 5 developmental stages (young, enlarging, white mature, early red, and fully red) using high performance liquid chromatography-mass spectrometry method. The results showed that compared with the former stage, there existed 189, 356, 82, 69 differentially expressed proteins, respectively in the fruit of the last four stages. The gene ontology annotation showed that the differential proteins between young and enlarging fruit mainly enriched in nucleic acid metabolism, and the differential proteins between enlarging fruit and white mature fruit were mainly involved in carbohydrate metabolism. We also identified 604, 186, 91, 83, 189 expressed proteins from the fruit of five stages, respectively. Mercator annotation and KEGG pathway annotation revealed that those specifically expressed proteins in young fruit were mainly involved in the RNA transport pathway. WGCNA analysis showed that the highly expressed proteins in the young fruit were mainly related to ribosome biogenesis. In general, prior to the white mature stage, the jujube fruit mainly underwent

收稿日期:2019-03-07 修回日期:2019-04-07
基金项目:新疆生产建设兵团科技重点项目(2017DB006-1);国家自然科学基金(31870584)。
作者简介:陈 昕,男,硕士在读,研究方向:森林培育。E-mail:chenxin0526@126.com
* 通信作者:黄 建,男,博士,副研究员,研究方向:经济林培育与育种。E-mail:huangj@nwsuaf.edu.cn

cell division and enlargement, while the fruit mainly underwent carbohydrate accumulation after the white ripening stage. The dynamic of proteins during jujube fruit development and maturity were elucidated from proteomics level, and therefore laid a theoretical foundation for improving the quality of jujube fruit.

Key words: *Ziziphus jujuba*; fruit ripening; comparative proteomics; fruit enlargement; sugar accumulation

枣树(*Ziziphus jujuba*)为鼠李科(Rhamnaceae)枣属植物,是原产于我国的经济林果树,也是鼠李科中最具经济价值的树种。近年来,随着枣在新疆等地的大面积推广,其栽培面积及和产量逐年增长。2016 年,我国年产枣(干重)625 万 t^[1]。枣果实营养丰富,是糖含量和抗坏血酸含量最丰富的水果之一,受广大消费者喜爱^[2]。枣作为重要的经济树种,其果实发育和成熟过程的生理机制是研究者们一直关心的对象。因此,阐明枣果实风味和营养成分积累的生理和分子机制,可以为果实品质提升和分子育种提供理论基础。

与其他非跃变型果实相似,枣果实的发育和成熟包括果实膨大、糖分积累、果实着色等多种生物学过程^[3]。研究表明,在开花后 4 周内枣果实细胞分裂旺盛但细胞体积增长缓慢,在 4 周后,枣果实细胞体积迅速增长并持续到白熟期^[4]。白熟期果肉仍有所增长但量微,主要进行物质的积累和转化^[5]。从白熟期开始,枣果实内蔗糖含量迅速升高并一直持续到全红期^[6-7]。同时,从这一时期开始,枣果皮内叶绿素含量迅速下降,使枣果皮由绿色变为白色。全红期的骏枣果实果皮颜色深红,主要由叶黄素、花青素以及黄酮醇类物质的积累造成^[8-9]。枣果实的发育和成熟过程,已经在转录组水平得到研究^[10-11],但在蛋白质组水平的研究尚未见报道。

蛋白质组学是在后基因组时代出现的一个新的研究领域,旨在研究细胞、组织或生物体蛋白质组成及其变化规律^[12]。其可用于研究植物的生长发育,对生物和非生物胁迫的响应及发病机理,翻译后修饰及蛋白质间的相互作用^[13]。蛋白质作为功能执行体,是基因表达更直接的反映。因此,与转录组相比,蛋白质组能更直接反应植物基因的表达状态^[14]。近年来,随着质谱技术的快速发展,使得高通量分离和鉴定肽段效率逐步提高。此外,越来越多的物种基因组测序完成,为构建参考蛋白质库提供了数据资源,使得蛋白质组学研究更加高效可靠。

本研究通过对骏枣果实不同生长阶段蛋白质组进行比较,筛选了在骏枣果实发育过程中差异表达和在各阶段特异表达的蛋白,并对这些蛋白进行了功能注释和统计分析。探讨了骏枣果实发育过程中细胞分裂和膨大涉及的代谢通路及关键蛋白,为进

一步揭示枣果实动态发育过程提供了蛋白质水平的参考,为提高枣果实品质提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 10 年生骏枣植株种植于西北农林科技大学红枣试验站(N37. 13°,E110. 09°),具有相同的生长环境和栽培条件且属于同一无性系。于 2017 年共采集 5 个生长发育阶段的果实(图 1),包括:幼果(开花后 20 d)、膨大期果实(开花后 40 d)、白熟期果实(开花后 60 d)、初红期果实(开花后 80 d)、全红期果实(开花后 100 d)。每阶段样品均采自 3 株长势一致的骏枣植株,采集后的果实被立即放入液氮中冷冻,然后储存于-80℃冰箱中供后续试验使用。



图 1 骏枣果实 5 个生长发育阶段的形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of 5 different development phases of *Ziziphus jujuba* fruit

1.2 枣果实蛋白质裂解及定量

根据 Pan^[15] 的方法略有修改。取每个阶段样品 2 g,在研钵中用液氮研磨成细粉,加入 10 mL TCA/丙酮(V : V=1 : 9),混匀后于-20℃静置 4 h,然后 4℃下 6 000×g 离心 40 min,弃上清。沉淀用丙酮冲洗 3 次后干燥。取 100 mg 干燥后的粉末,加入 500 μL SDT 裂解液,震荡混匀,沸水浴 5 min,超声破碎(180 W,2 min),沸水浴 15 min,14 000×g 离心 15 min 后取上清。用 BAC Protein Assay Kit (Bio-Rad,美国)进行蛋白质定量,分装后于-80℃冰箱中保存备用。

1.3 蛋白质质检与酶解

从每份蛋白质样品中各取 20 μg 进行 SDS-PAGE 电泳。蛋白样品加入 4 μL 5×上样缓冲液(10% SDS,0. 5% 溴酚蓝,50% 甘油,500 mmol DTT,250 mmol Tris-HCl,pH6. 8)后沸水浴 5 min,14 000×g 离心 10 min 取上清,用 12. 5% SDS-PAGE 进行电泳。电泳条件为电压 15 mA、时间 60

min。电泳完毕后,凝胶采用考马斯亮蓝染色。质量检测合格后,参考董飞^[13]等方法进行 FASP 酶解。

1.4 液质鉴定与差异蛋白相对定量

根据孙倩倩^[16]的方法略有修改。使用钠升流速 HPLC 液相系统 EASY-nLC1000 对肽段进行分离。流动相 A:0.1%甲酸乙腈水溶液(2%乙腈),流动相 B:0.1%甲酸乙腈水溶液(84%乙腈)。色谱柱为 Thermo EASY column SC200 150μm×100mm (RP-C₁₈)。流速:400 nL/min。线性洗脱梯度(流动相 B):0%~45%,0~100 min;45%~100%,100~108 min;100%,108~120 min。分离后肽段用 Q-Exactive 质谱仪(Thermo Finnigan,美国)进行质谱分析。检测方式:正离子;母离子扫描范围:300~1 800(m/z);多肽及其碎片的质荷比采集方法:每次全扫描后采集 20 个碎片图谱。使用 Maxquant (1.3.0.5)^[17]对 LC-MS/MS 获得的质谱图谱进行分析,并进行非标记相对定量。

1.5 生物信息学分析

根据枣树基因组的基因集 (Accession: LPXJ00000000 and Dryad Digital Repository. doi: 10.5061/dryad.83fr7)^[18]对获得的肽段进行比对注释。使用 Blast2GO(5.2)对鉴定到的蛋白质进行基因本体 (GO) 注释^[19],使用 plaBi 数据库 (<http://www.plabipd.de/portal/mercator-sequence-annotation>)对蛋白质进行 Mercator 注释,利用 KAAS (<https://www.genome.jp/tools/kaas/>)对蛋白质进行通路注释。用每个阶段蛋白质表达量与其前一阶段相比鉴定差异表达蛋白 ($|\log_2FC| > 1, P < 0.05$)。使用 MeV4.9.0 (<https://sourceforge.net/projects/mev-tm4/files/mev-tm4/>)对鉴定到的蛋白质进行 K-means 聚类分析。使用 R 语言 hclust 函数对枣果实样品进行层级聚类,相关参数:距离,欧式距离;连接方法,类平均法。使用 R 语言 WGCNA 包 (v1.66) (<https://cran.r-project.org/web/packages/WGCNA/index.html>)构建蛋白共表达网络。共表达网络参数:软阈值,6;TOM 类型,有向;minModuleSize,50;合并剪切高度,0.3。利用 Cytoscape 3.6.1 (<https://cytoscape.org/>)进行蛋白共表达网络可视化。

2 结果与分析

2.1 骏枣果实不同发育阶段蛋白质组变化

利用 SDS-PAGE 对蛋白质提取和裂解效果进行了检测。如图 2 所示,枣果实蛋白质相对分子质量主要在 18.4~116 ku,有 18 条清晰可见的条带;不同阶段样品之间电泳条带有所差异,25 ku 处的

条带随着果实成熟度的增加颜色加深。各重复之间的电泳图谱未观察到明显差别。

质谱分析共鉴定到肽段数 43 986 个,比对骏枣基因组后,共鉴定蛋白质数 4 998 个,占骏枣基因集 (27 443 个基因)的 18.2%。根据从 3 次生物学重复中至少 2 次鉴定到同一种蛋白的原则,从幼果、膨大果、白熟果、初红果和全红果分别鉴定到 3 366、3 757、3 373、3 132、3 125 个蛋白质,在 5 个阶段均检测到的蛋白质数为 2 207 个(表 1)。使用 R 语言对 5 个阶段的骏枣果实进行聚类分析。结果表明,不同生物学重复之间具有良好的相关性(图 3)。幼果期果实与膨大期果实被聚集到一起,其余 3 个阶段的果实则被聚集在另一个簇中。

表 1 骏枣果实 5 个生长发育阶段鉴定到的总蛋白及差异蛋白数

Table 1 Identified proteins and differentially expressed proteins at five developmental and ripening stages of <i>Ziziphus jujuba</i> 'Junzao' fruit				
花后 天数/d	鉴定到的 蛋白质/个	差异 蛋白质/个	上调 蛋白/个	下调 蛋白/个
20	3 366			
40	3 757	189	79	110
60	3 373	535	162	373
80	3 132	666	161	505
100	3 125	688	181	507
总蛋白/个	4 998	943	274	669

2.2 不同阶段差异表达蛋白的 GO 富集分析

使用 Maxquant 对鉴定到的蛋白质进行非标记定量,使用 *t* 检验对表达强度进行比较。结果显示,与各自的前一阶段相比,在膨大果、白熟果、初红果、全红果中差异表达的蛋白质数分别为 189、356、82、69 个(表 1)。对 4 个阶段的差异蛋白进行 GO 富集分析发现,幼果与膨大果差异蛋白主要富集在蛋白质磷酸化和核酸代谢过程;膨大果与白熟果差异蛋白主要富集在碳水化合物代谢过程,我们将与碳水化合物代谢相关的差异蛋白筛选后发现,这些蛋白均在白熟果中高表达,而在膨大果中几乎不表达;白熟果与初红果差异蛋白主要富集在酰胺生物合成过程;初红果与全红果差异蛋白主要富集在大分子代谢过程(图 4)。

2.3 骏枣果实不同发育和成熟阶段特异表达蛋白的功能分析

使用 K-means 聚类方法,将鉴定到的 4998 个蛋白质依据其表达趋势进行聚类,共划分为 50 个簇 (Cluster 1~50),其中 8 个簇具有明显的阶段特异性表达特征(图 5)。在幼果期特异表达的 3 个簇 (C16、C37、C45)被合并在一起并定义为组 1;C8和

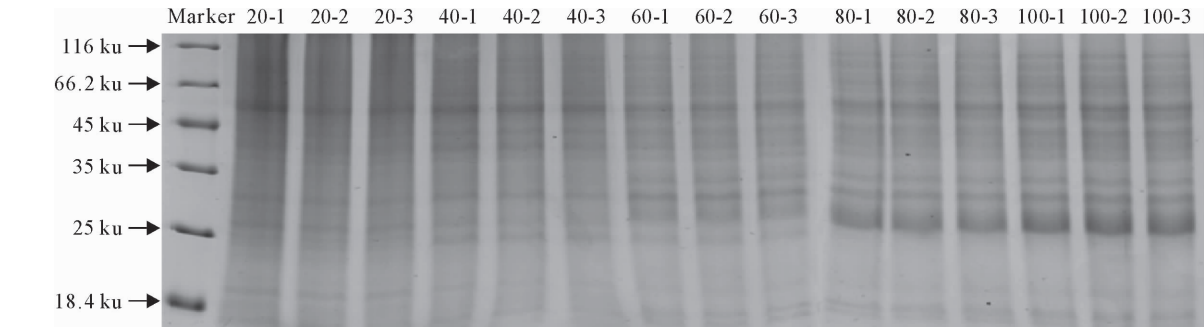


图 2 骏枣果实蛋白质提取样品的 SDS-PAGE 分析

Fig. 2 The SDS-PAGE image of jujube protein samples

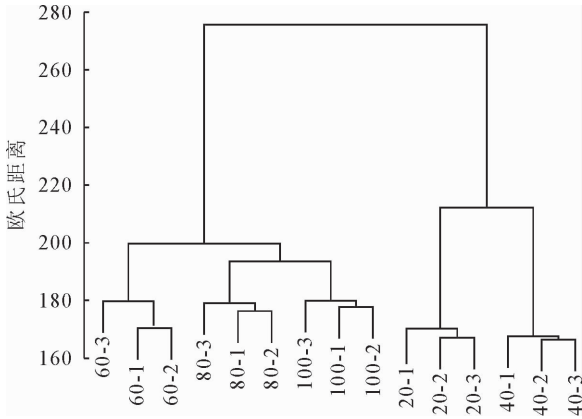


图 3 不同发育成熟阶段骏枣果实样品蛋白质组的聚类关系

Fig. 3 Clustering analysis of jujube fruit proteomics at different ripening stages

C39 在膨大期果实中特异表达,由这 2 个簇组成组 2;C22 在白熟期果实中特异表达,被定义为组 3; C14 在初红期果实中特异表达,被定义为组 4;C18 在全红期果实中表达量最高,被定义为组 5。组 1、2、3、4、5 分别包含蛋白质 604、186、91、83、189 个。Mercator 注释结果显示 5 个组中与蛋白质相关的蛋白均最多(图 6a),除此之外,组 1 中与 RNA(96 个)相关的蛋白数量最多;组 2 中与信号转导相关的蛋白质数量最多(18 个);组 3 中与细胞(6 个)和信号转导(6 个)相关的蛋白数量最多,组 4 中与 RNA(9 个)相关的蛋白数量最多,组 5 中与物质转运(15 个)相关的蛋白质最丰富。基于 Mercator 注释结果,本研究采用 Fisher 精确检验对在骏枣果实 5 个阶段中特异表达的蛋白进行了富集分析。结果表明:在幼果中与 DNA 和 RNA 相关的蛋白显著富集

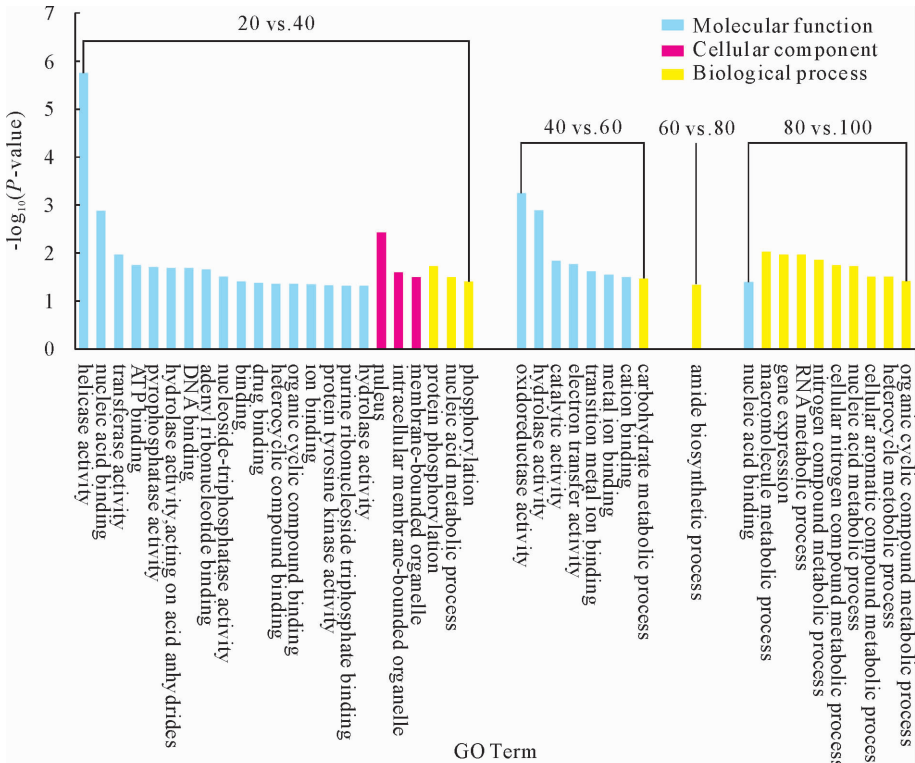


图 4 骏枣果实不同发育和成熟阶段差异表达蛋白 GO 富集情况

Fig. 4 GO analysis of differentially expressed proteins in different developmental and ripening stages of jujube fruits

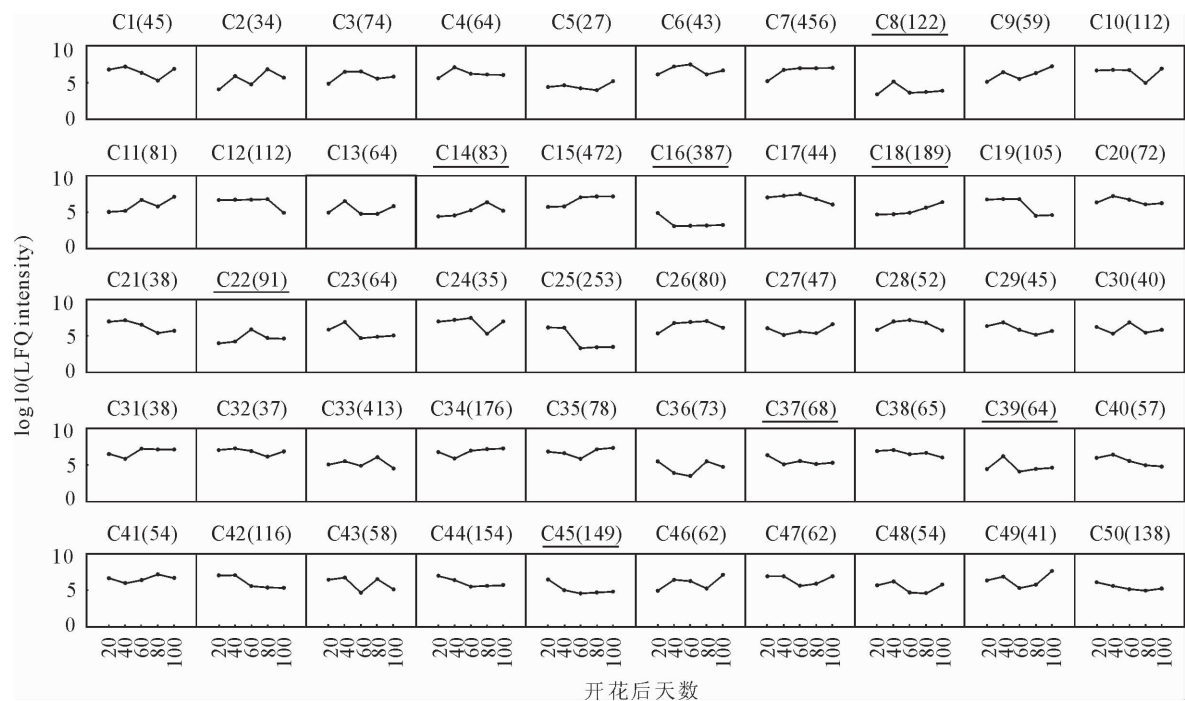
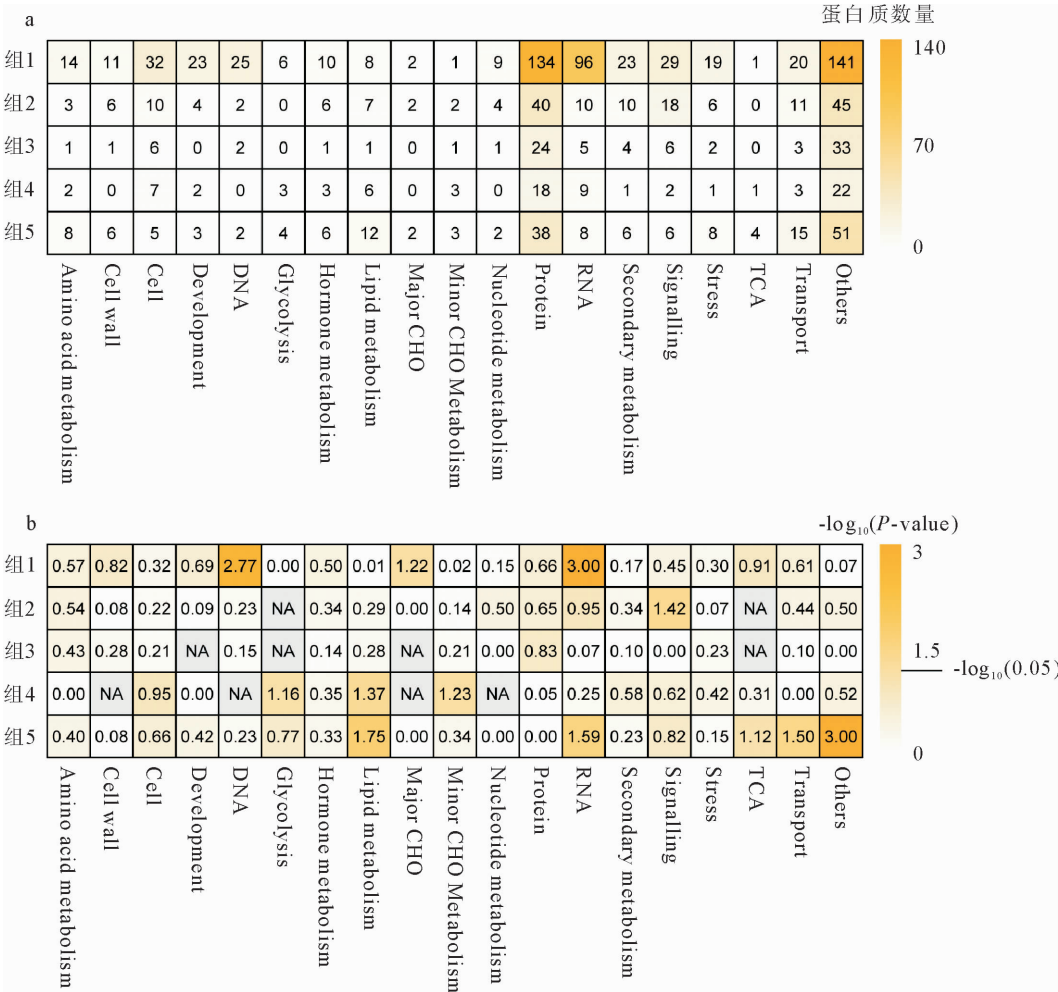


图 5 骏枣果实发育和成熟阶段蛋白质组的 K-means 聚类情况

Fig. 5 K-means clustering reveals unique stage-specific expression trends during jujube fruit development and ripening



注：a：特异表达蛋白在各通路中的数量；b：特异表达蛋白在各通路中的富集程度。

图 6 骏枣果实发育和成熟阶段特异表达蛋白的数量和富集分析

Fig. 6 Enrichment analysis of stage-specific proteins

(图 6b),膨大果中与信号转导相关蛋白显著富集,初红果中与脂代谢相关蛋白显著富集,全红果中与脂代谢,RNA 和物质转运相关蛋白显著富集。

将各时期特异表达蛋白进行通路分析。结果表明:组 1 中蛋白主要参与了 RNA 转运通路,组 2 中

蛋白主要参与了核苷酸糖代谢通路和植物激素信号转导过程,组 3 中的蛋白主要参与了氧化磷酸化和多糖降解通路,组 4 中的蛋白主要参与了糖酵解通路,组 5 中的蛋白主要参与了蛋白质加工和糖酵解通路(图 7)。

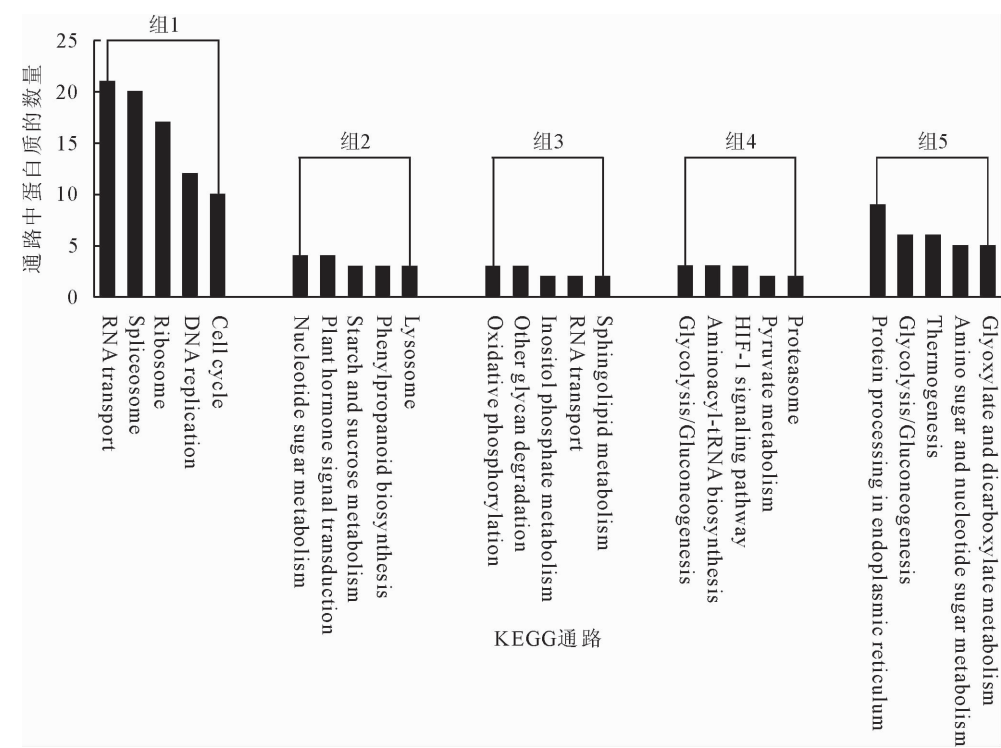


图 7 骏枣果实发育和成熟过程特异表达蛋白的 KEGG 通路注释
Fig. 7 KEGG pathway annotation for stage-specifically expressed proteins

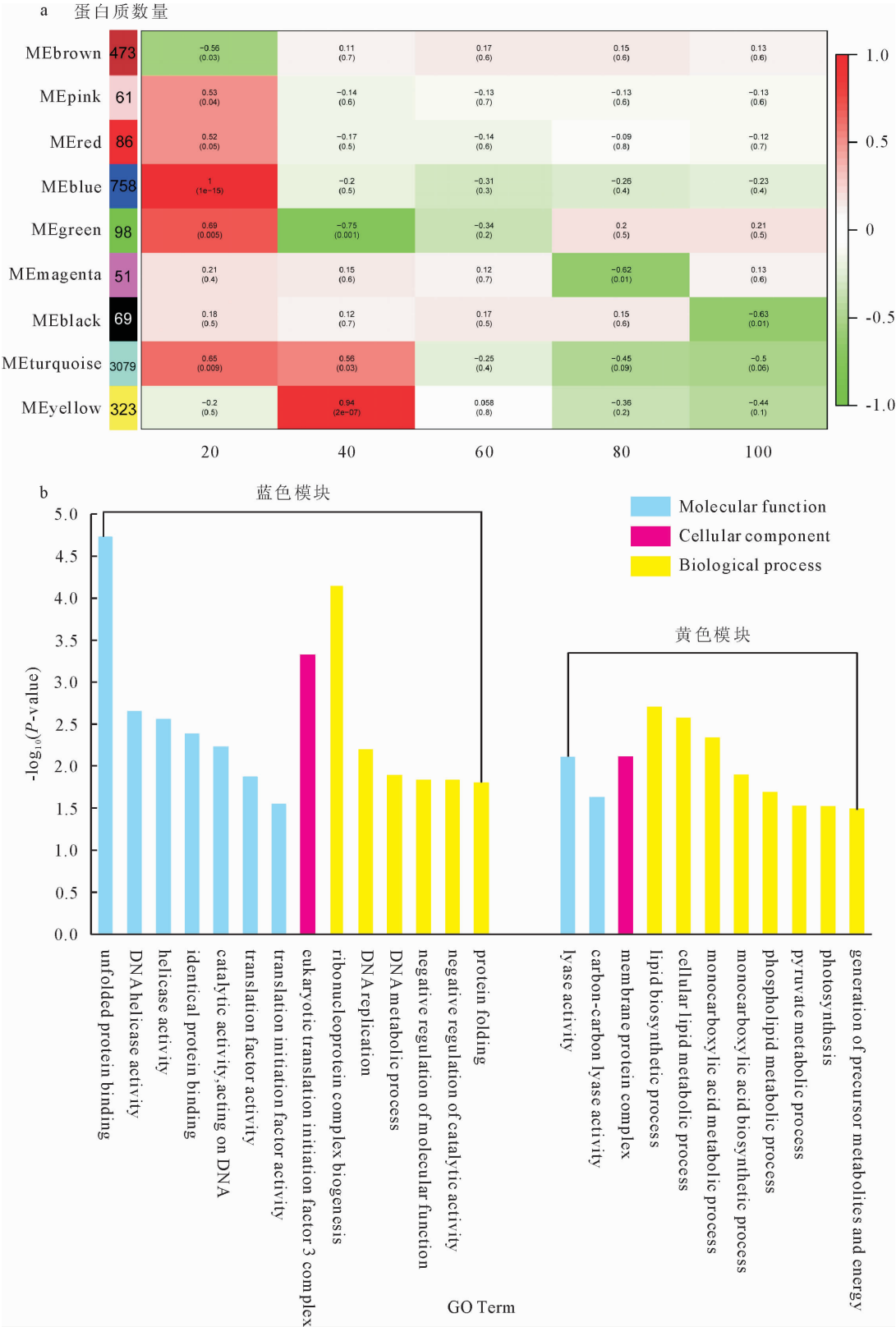
2.4 蛋白质的共表达网络分析

使用 R 语言中的 WGCNA 包对鉴定到的 4998 个蛋白质进行共表达网络分析。如图 8a 所示,该分析将鉴定到的蛋白质共划分为 9 个模块,每个模块用不同的颜色标记。在 9 个模块中,蓝色模块(ME-blue)与幼果期果实高度相关,表明蓝色模块内的蛋白在幼果期具有较高的表达量,而在其他阶段表达量较低。同理,黄色模块(MEyellow)内蛋白质在膨大期果实中具有较高的表达量。对蓝色模块内蛋白质进行 GO 富集分析,发现核糖体生物合成的蛋白质富集程度最高(图 8b)。黄色模块内蛋白质富集结果显示,与脂质生物合成过程和羧酸代谢过程相关蛋白富集程度较高,本研究分别选择蓝色和黄色模块中拓补重叠值前 150 的蛋白质构建了共表达网络。如图 9 所示,每个点代表一个蛋白,蛋白质之间的线(边)代表共表达相关性,在网络中与蛋白质相连的边越多表示其越重要。在蓝色模块中具有最高边数的蛋白是 LTP1(99 条边)(图 9a),在黄色模块中 GAPA(45 条边)、AP1G2(43 条边)、PSBO1(40 条边)具有较多边数(图 9b)。

3 结论与讨论

本研究分析了骏枣果实 在幼果期、膨大期、白熟期、初红期和全红期 5 个阶段蛋白质组动态变化规律。从比较蛋白质组角度,解析了枣果实发育和成熟过程中蛋白质组变化过程和差异表达蛋白。通过对差异蛋白和各时期特异表达蛋白质进行注释和统计分析,发现骏枣果实 在白熟期之前主要进行细胞的分裂和膨大,在白熟期之后主要进行碳水化合物 的积累。本研究为解析骏枣果实膨大与成熟过程的生理机制提供了蛋白质水平的参考。

枣树是我国重要的经济果树,也具有其特殊的生物学特性,尤其是其果实风味和营养积累始终是研究者和生产者关注的对象。骏枣基因组于 2016 测序完成,为从分子水平深入开展研究提供重要数据资源^[18]。基因组数据库的建立,也为蛋白质组的精确鉴定提供了参考,有力推动了枣树蛋白质组的研究。本研究从骏枣果实中共鉴定到蛋白质 4 998 个占骏枣基因组中编码基因的 18.2%。与此相似,董飞^[13]等利于 LC-MS/MS 技术从番茄果实

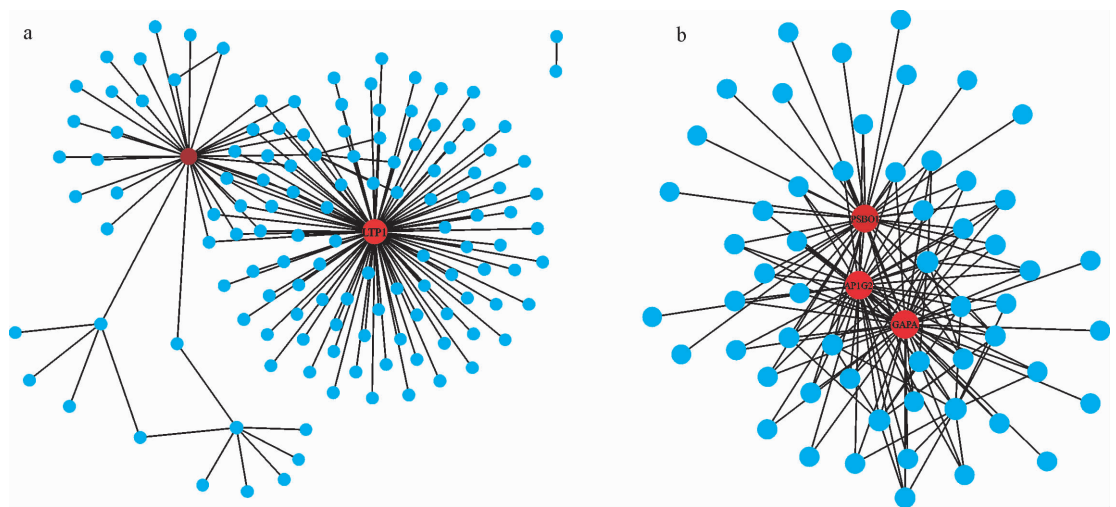


注：a：模块与骏枣 5 个阶段果实的相关性；b：蓝色和黄色模块内蛋白质 GO 富集情况。

图 8 骏枣果实蛋白质组的 WGCNA 分析

Fig. 8 WGCNA analysis of jujube fruit proteins during fruit development and ripening stages

中共鉴定到蛋白质3 110个,占番茄基因组编码基因(33 840个)的 9.2%。目前基于 LC-MS/MS 技术鉴定到的蛋白质数量仍较少,其主要原因在于:1)肽段分离技术不够完善,质谱分辨率不够高。2)可变剪切的存在使一个基因可能产生多个蛋白,基于基因组数据构建的参考蛋白质组数据库不能完全满足



注:a:蓝色模块内的蛋白质共表达网络;b:黄色模块内的蛋白质共表达网络。

图 9 蓝色和黄色模块内的蛋白质共表达网络

Fig. 9 Co-expression network of proteins in blue and yellow modules

蛋白质组鉴定的需要。3)本研究使用的材料均来自果实,不能完全代表枣树整体蛋白质表达情况。但与双向凝胶电泳技术相比,基于 LC-MS/MS 的蛋白质组鉴定能获得更多的蛋白质数量,鉴定数据增加约 43.3%^[20]。因此,依靠非标记定量蛋白质组技术可以更有力地解析果实蛋白质组的变化情况。

本研究通过 Mercator 注释和 KEGG 注释以及 GO 富集分析发现,在幼果期果实内 DNA 和 RNA 代谢活跃,同时,WGCNA 分析结果表明 LTP1 为骏枣幼果内核心蛋白。研究表明植物非特异性脂转运蛋白(LTPs)是促进脂肪酸、磷脂、糖脂和类固醇转移的可溶性蛋白,它可以参与多种植物的角质和脂质的合成^[21]。因此可推测骏枣幼果内以细胞分裂为主。Mercator 注释和富集分析结果均表明信号转导相关蛋白在膨大果中较多,KEGG 通路分析显示,这些蛋白质主要参与了油菜素内酯的信号转导途径。油菜素内酯具有促进细胞伸长和分裂的功能。但在此阶段与 DNA 复制相关蛋白富集程度不高,因此推测该阶段主要为油菜素内酯介导的细胞膨大过程。有研究表明,大枣果实在开花后 4 周内细胞分裂旺盛而细胞大小增长缓慢,4 周后细胞停止分裂,细胞体积迅速膨大^[4],与本研究结果相似。

通过与前一阶段相比,发现从膨大期到白熟期差异蛋白数量最多,意味着在这 2 个阶段内骏枣果实细胞代谢活动发生了较大变化。研究表明,从白熟期开始骏枣果实内蔗糖含量迅速升高^[5-6]。在差异表达蛋白分析中,膨大果与白熟果差异蛋白在碳水化合物代谢过程中显著富集,且这些蛋白在白熟果中表达量均较高而在膨大果中几乎不表达,因此在这些差异蛋白中可能存在与蔗糖积累密切相关的

蛋白质。值得注意的是初红果与全红果差异蛋白在细胞芳香化合物代谢过程中显著富集,但初红果与白熟果差异蛋白并未在这一代谢过程富集,表明全红阶段可能是骏枣果实香气物质合成的主要时期。

本研究中 WGCNA 分析结果显示 GAPB 为骏枣膨大果中的核心蛋白,KEGG 注释结果显示,该蛋白为 3-磷酸甘油醛脱氢酶 A 亚基。桑利丹^[22]试验证明,敲除蜡样芽孢杆菌中编码 3-磷酸甘油醛脱氢酶的 *gapB* 基因后其生物膜形成量明显减少,并指出 GapB 蛋白通过糖异生途径影响葡萄糖的生物合成进而参与生物膜的产生。此外,卜娇迪^[23]通过 RT-qPCR 试验证明,编码金丝小枣 3-磷酸甘油醛脱氢酶的 *ZjGAPDH* 基因在其幼果和全红果中表达量较其他时期更高,但目前尚缺乏试验证明 *ZjGAPDH* 基因参与了枣果实细胞的生物膜合成。

参考文献:

[1] 中国林业统计年鉴委员会.中国林业统计年鉴(2016)[M].北京:中国林业出版社,2017:86-87.

[2] 樊保国,李月梅,李登科.鲜食枣品质性状的综合评价[J].西北林学院学报,2012,27(2):79-82,87.

FAN B G, LI Y M, LI D K. Comprehensive assessmet of the quality characters of fresh-jujube cultivars [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2012, 27 (2): 79-82, 87. (in Chinese)

[3] 李欢,张舒怡,张钟,等.鲜食枣与制干枣的成熟软化机理差异研究[J].西北林学院学报,2017,32(5):137-143.

LI H,ZHANG S Y,ZHANG Z,et al. Differences in ripening and softening mechanism between fresh-eating and dried jujube fruit[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32 (5):137-143. (in Chinese)

[4] 曲泽洲,王永惠,周吉柱,等.枣果实发育与细胞分裂和增长的

关系[J]. 河北农业大学学报,1964,3(1):1-15.

[5] 张怀龙,马峰秀. 枣果实发育动态规律与优化栽培的相关性[J]. 林业科技通讯,1997(3):22-23.

[6] 费光雪. 骏枣果实糖分积累及相关代谢酶活性变化的研究[J]. 新疆农垦科技,2018,41(4):36-39.

[7] 林思思,蒲小秋,费光雪,等. 冬枣和骏枣果实发育过程中糖组分及代谢酶活性变化的研究[J]. 黑龙江农业科学,2018(7):8-11.

[8] SHI Q Q,ZHANG Z,SU J J,*et al.* Comparative analysis of pigments,phenolics,and antioxidant activity of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) during fruit development[J]. Molecules,2018,23(8):1917.

[9] 张琼,周广芳,沈广宁,等. 冬枣果皮着色过程中类黄酮类物质成分及含量的变化[J]. 园艺学报,2010,37(2):193-198. ZHANG Q,ZHOU G F,SHEN G N,*et al.* The flavonoids in the fruit peel of *Ziziphus jujuba* Mill. ‘Dongzao’ during coloring process [J]. Acta Horticulturae Sinica,2010,37(2):193-198. (in Chinese)

[10] 张春梅. 枣糖酸代谢及其驯化的分子机制研究[D]. 杨陵:西北农林科技大学,2016.

[11] 魏琦琦. 基于转录组测序的枣成花和果实品质重要基因的研究[D]. 长沙:中南林业科技大学,2017.

[12] 解振强,韩柏明,巫建华. 葡萄着色期果皮蛋白质组分析[J]. 园艺学报,2018,45(11):1-22. XIE Z Q,HAN B M,WU J H. Proteome analysis of during grape coloring period[J]. Acta Horticulturae Sinica,2018,45(11):1-22. (in Chinese)

[13] 董飞,王传增,孙秀东,等. 基于蛋白质组学研究红光对番茄果实糖代谢的影响[J]. 园艺学报,2018,45(10):78-88. DONG F,WANG C Z,SUN X D,*et al.* Studies on the sugar metabolism mechanism of tomato fruit under red light revealed by proteomic analysis[J]. Acta Horticulturae Sinica,2018,45(10):78-88. (in Chinese)

[14] 周凯凯,张胜,赵忠. 不同树龄银杏叶片差异蛋白组学研究[J]. 西北林学院学报,2018,33(1):105-112. ZHOU K K,ZHANG S,ZHAO Z. Proteomic analysis on ginkgo leaves with different ages[J]. Journal of Northwest Forestry University,2018,33(1):105-112. (in Chinese)

[15] PAN X Q,ZHU B Z,ZHU H L,*et al.* iTRAQ protein profile analysis of tomato green-ripe mutant reveals new aspects critical for fruit ripening [J]. Journal of Proteome Research,2014,13(4):1979-1993.

[16] 孙倩倩. 外源褪黑素对番茄果实采后成熟的影响[D]. 北京:中国农业大学,2016.

[17] CHEN R H,CHEN G L,HUANG J. Shot-gun proteome and transcriptome mapping of the jujube floral organ and identification of a pollen-specific S-locus F-box gene[J]. Peerj,2017,5:e3588.

[18] HUANG J,ZHANG C,ZHAO X,*et al.* The jujube genome provides insights into genome evolution and the domestication of sweetness/acidity taste in fruit trees[J]. PLOS Genetics,2016,12(12):e1006433.

[19] STEFAN G,JUAN M G,TEROL J,*et al.* High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite[J]. Nucleic Acids Research,2008,36(10):3420-3435.

[20] 曹尚银,沈程清,曹达,等. 盐胁迫下枣叶片蛋白质组差异的分析[J]. 果树学报,2013,30(1):43-47,185.

[21] 金大伟,杨军,李锋,等. 烟草非特异性脂质转移蛋白基因的克隆与表达分析[J]. 烟草科技,2015,48(1):12-20.

[22] 桑利丹. 甘油醛三磷酸脱氢酶参与蜡样芽孢杆菌 0-9 生物膜形成[D]. 开封:河南大学,2018.

[23] 卜娇迪,陈莹莹,刘孟军,等. 枣甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因的克隆及表达分析[J]. 北方园艺,2015(13):102-106. BU J D,CHEN Y Y,LIU M J,*et al.* Cloning and expression analysis of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Ziziphus jujuba* [J]. Northern Horticulture,2015(13):102-106. (in Chinese)

(上接第 81 页)

[19] 汪炳良,陈竹君,张明方,等. 榨菜胞质雄性不育系内源激素代谢特点的初步研究[J]. 园艺学进展,1998(Ⅱ):576-580.

[20] 隗微,韩宝,刘阳,等. 板栗‘短花云丰’雄花序发育期内内源激素变化[J]. 北京农学院学报,2017,32(4):42-45.

[21] 巴青松,张改生,李桂平,等. 赤霉素与小麦生理型雄性不育的关系[J]. 麦类作物学报,2017,37(3):344-348. BA Q S,ZHANG G S,LI G P,*et al.* Relationship between gibberellin and chemical-induced male sterility in wheat[J]. Journal of Triticeae Crops,2017,37(3):344-348. (in Chinese)

[22] 田长恩,张明永,段俊,等. 油菜细胞质雄性不育系及其保持系不同发育阶段内源激素动态变化初探[J]. 中国农业科学,1998,31(1):20-25.

[23] 夏涛,刘纪麟. 生长素和玉米素与玉米细胞质雄性不育性关系的研究[J]. 作物学报,1994,20(1):26-32. XIA T,LIU J L. Study on the relationship between auxin, zeatin and cytoplasmic male sterility in maize(*Zea mays* L.) [J]. Acta Agronomica Sinica,1994,20(1):26-32. (in Chinese)

[24] 游年顺,雷捷成,黄利兴,等. 水稻同核异质体雄性不育系内源激素 IAA、GA₁₊₃₊₄₊₇ 比较分析[J]. 福建省农科院学报,1997,12(1):7-11. YOU N S,LEI J C,HUANG L X,*et al.* Comparing analysis of endogenous IAA、GA₁₊₃₊₄₊₇ in rice male-sterile line with all-oplasm-homokaryon[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences,1997,12(1):7-11. (in Chinese)

[25] SAWHNEY V K,SHUKLA A. Male sterility in flowering plants:are plant growth substances involved [J]. American Journal of Botany,1994,81(12):1640-1647.