

网络出版时间:2024-07-31 11:12 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2025.02.006
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1390.S.20240730.1616.015

基于转录组测序的云南松腋芽生长发育中 差异表达基因分析

周驰宇^{a,b},孔迪^{a,b},徐骏飞^{a,b},郑超凡^{a,b},孙赫^{a,b},李瑞连^{a,b},陈林^{a,b},
蔡年辉^{a,b},许玉兰^{a,b},唐军荣^{a,b}

(西南林业大学 a 西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室,
b 西南地区生物多样性保育国家林业局重点实验室,云南 昆明 650224)

【摘要】【目的】通过高通量 RNA 测序技术,初步探究云南松腋芽生长分子机制,为后续克隆云南松腋芽重要基因及其功能验证研究奠定基础。【方法】以无腋芽与有腋芽 2 种生长状态的云南松幼苗为研究材料,构建其茎部组织 cDNA 文库并进行转录组测序,从中筛选出差异表达基因(DEGs),利用生物信息学方法对 DEGs 进行 GO 和 KEGG 分析;从激素信号转导、淀粉和蔗糖代谢与糖酵解/糖异生代谢通路中选出 6 个与腋芽萌发和生长相关的基因,并采用 RT-qPCR 技术进行验证分析。【结果】比较无腋芽与有腋芽云南松的转录组文库,共鉴定到 1 420 个 DEGs,其中上调基因与下调基因分别有 524 和 896 个。GO 富集分析结果表明,在细胞组分类别中,差异基因数量最多的前 3 个亚类从多到少依次为胞外区、膜和细胞解剖实体部分;在分子功能中,注释为催化活性的差异基因数量最多,其次为电子传递活性、氧化还原酶和抗氧化活性;在生物学过程中,差异基因主要集中注释在细胞杀伤和刺激响应过程中。KEGG 分析结果表明,云南松基因可能通过玉米素生物合成及糖酵解/糖异生显著富集通路参与对腋芽生长的响应。此外,在激素信号转导及淀粉和蔗糖代谢、糖酵解/糖异生代谢通路上共发现 12 个 DEGs,从中筛选出 6 个候选基因,对其进行 RT-qPCR 验证,显示各基因表达趋势与转录组分析结果一致。【结论】通过分析植物激素代谢及糖代谢通路上相关基因表达的变化,筛选出 6 个与腋芽生长发育相关的基因,可用于进一步揭示云南松腋芽生长机制及云南松的遗传改良。

【关键词】 云南松;腋芽;差异表达基因;转录组测序

【中图分类号】 S791.257

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2025)02-0049-10

Analysis of differentially expressed genes in the growth and development of *Pinus yunnanensis* axillary buds based on transcriptome sequencing

ZHOU Chiyu^{a,b}, KONG Di^{a,b}, XU Junfei^{a,b}, ZHENG Chaofan^{a,b}, SUN He^{a,b},
LI Ruilian^{a,b}, CHEN Lin^{a,b}, CAI Nianhui^{a,b}, XU Yulan^{a,b}, TANG Junrong^{a,b}

(a Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Utilization in the Southwest Mountains of China, Ministry of Education,
b Key Laboratory of Biodiversity Conservation in Southwest China, State Forestry Administration,
Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China)

【收稿日期】 2023-12-20

【基金项目】 云南省农业联合专项重点项目(202301BD070001-152);云南省农业联合专项面上项目(202301BD070001-035);国家自然科学基金项目(32360381);云南省万人计划青年拔尖人才项目(YNWR-QNBJ-2019-075);云南省研究生导师团队建设项目(2022-97)

【作者简介】 周驰宇(2000—),男,贵州贵阳人,硕士,主要从事林木遗传育种研究。E-mail:Zhou_Chi_Yu@163.com

【通信作者】 许玉兰(1979—),女,贵州习水人,教授,博士生导师,主要从事林木遗传育种研究。E-mail:xvyulan@163.com
唐军荣(1982—),男,广西全州人,副教授,硕士生导师,主要从事林木遗传育种研究。E-mail:tjrzy@163.com

Abstract: 【Objective】 This study employed high-throughput RNA sequencing technology to preliminarily explore the molecular mechanisms of axillary bud growth in *Pinus yunnanensis* for laying a foundation for subsequent cloning and functional validation of significant genes associated with the axillary buds of *P. yunnanensis*. **【Method】** Seedlings of *P. yunnanensis* with and without axillary buds were used as research materials. A cDNA library of their stem tissues was constructed and transcriptome sequencing was conducted. Differential Expression Genes (DEGs) were screened, and bioinformatics methods were applied for Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis of these DEGs. Six genes related to axillary bud germination and growth were selected from the hormone signaling, starch, sucrose metabolism and glycolysis/gluconeogenesis pathways, and their expression was validated using RT-qPCR technology. **【Result】** In comparing the transcriptome libraries of *P. yunnanensis* with and without axillary buds, a total of 1 420 DEGs were identified, among which 524 were upregulated and 896 were downregulated. GO enrichment analysis revealed that the top three subcategories with the most differentially expressed genes in the cellular component category were the extracellular region, membrane, and cellular anatomical entity from most to least. In terms of molecular function, differentially expressed genes annotated for catalytic activity was the most numerous, followed by electron transfer activity, oxidoreductases and antioxidant activities. In biological processes, the differentially expressed genes were primarily annotated in cell killing and response to stimulus processes. KEGG analysis suggested that the genes of *P. yunnanensis* may participate in axillary bud growth response through significantly enriched pathways of zeatin biosynthesis and glycolysis/gluconeogenesis. Moreover, twelve DEGs were identified in the hormone signaling pathway, starch, sucrose metabolism, and glycolysis/gluconeogenesis pathways, from which six candidate genes were selected for RT-qPCR validation, showing expression trends of each gene consistent with the transcriptome analysis results. **【Conclusion】** By analyzing the changes in the expression of genes related to plant hormone metabolism and carbohydrate metabolism pathways, six genes associated with the growth and development of axillary buds were identified. These genes may be used to further elucidate the growth mechanisms of axillary buds in *P. yunnanensis* and contribute to the genetic improvement of this species.

Key words: *Pinus yunnanensis*; axillary bud; differentially expressed genes (DEGs); transcriptome sequencing

云南松(*Pinus yunnanensis*)是我国西南地区主要森林树种之一^[1-2],其以适应性强、耐旱等特质而著称,在荒山造林以及水土流失治理方面发挥着重要作用^[3]。近年来,云南松大多以实生繁殖种苗造林为主,导致其后代产生分化,如表型、产脂量、生物量等性状的表现差异较大,造成云南松高品质种质资源逐步减少。与实生繁殖相比,无性繁殖方式更能确保母树的优良特性得到保持^[4]。对于云南松优良无性系的繁育,获得优质穗条是无性系繁殖的基础,云南松分枝发育则是获得优质穗条的前提。分枝发育是植物形态发生变化的关键,直接关系到植物的生物量和产量^[5],植物的株型多样性和生产力受到分枝形状、位置和数量的影响^[6]。分枝增多不仅能通过增加生物量、调整树冠形状、减少风蚀而带来显著的经济收益,同时也可带来明显的生态和社会效益^[7]。对于云南松而言,分枝数量提高可以为

无性系繁殖提供有力保障,使造林生产力更上一个台阶。植物分枝包括 2 个不同发育阶段,首先是形成腋生分生组织的过程,其次是腋芽的生长发育过程^[8]。在腋生分生组织发育形成芽后,有一部分芽会进入休眠状态,也有可能直接发育成为分枝。需要强调的是,休眠的芽并非一直处于休眠状态,其在适宜的环境条件下可以重新被激活,然后生长为分枝^[9]。云南松腋芽发育成新枝可作为嫁接、扦插、组培等无性繁殖的优良材料,然而目前鲜见关于云南松腋芽生长分子调控机制方面的研究报道。

梁锐涛等^[10]使用第 2 代和第 3 代高通量测序技术,对盐胁迫处理前后的无瓣海桑进行了转录组测序分析,最终得到无瓣海桑根系响应盐胁迫的候选基因;皓新强等^[11]也利用转录组测序技术对金盏幼苗响应盐胁迫进行分析,为深入研究榿树耐盐碱生理及其分子机制提供了理论依据。目前利用转

录组测序技术对腋芽的研究大多数以经济作物为主,例如对去顶后 2 天的烟草进行转录组测序分析,结果表明许多差异表达基因(DEGs)显著富集在苯丙素生物合成以及植物激素信号转导等通路中,暗示了这些途径对腋芽的休眠和解除过程具有重要影响^[12];对苹果的研究发现,腋芽在响应外施 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)的生长发育过程中,与蔗糖代谢包括糖酵解和糖异生相关的差异表达基因大多数有上调表达现象^[13]。上述研究表明,可以通过改变苯丙素生物合成、植物激素信号转导以及糖代谢等通路调控生长素、赤霉素等激素含量,从而影响腋芽的生长发育。植物内源激素调控植物生长发育过程中的大量生理活动^[14],其中吲哚-3-乙酸(IAA)是最常见的天然活性生长素^[15],与植物生长发育如细胞的伸长与分裂^[16]、腋芽发育^[17]、分枝构型^[18]等有着密不可分的关系。此外有研究表明,植物激素如细胞分裂素、赤霉素和脱落酸在调控腋芽生长中也发挥着关键作用^[19-20]。总之,植物腋芽生长是各种激素相互调控的结果,生长素通过极性运输的方式来调控腋芽生长,在此过程中生长素会促进独脚金内酯合成基因的表达,在腋芽发育成分枝的过程中发挥协同作用^[21]。同时有研究发现,外源施用脱落酸可明显抑制独脚金内酯的生物合成,使得植物在后期有更多的非生产性分蘖发生^[22]。目前,蔡年辉等^[23]已对云南松进行了一代高通量测序分析,但利用转录组测序技术对云南松腋芽生长发育机制的研究尚未见报道,这不利于云南松遗传改良工程的高质量发展。为此,本研究以云南松幼苗为试验材料,利用转录组测序技术对无腋芽与有腋芽云南松进行 DEGs 分析,并筛选与腋芽生长发育有关的候选基因,通过转录组水平对云南松腋芽生长机制进行探索,以期对松类植物腋芽生长的分子机制研究提供科学依据,为后续克隆云南松腋芽重要基因及其功能验证研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试云南松于 2022 年 1 月在西南林业大学温室大棚(25°04'00"N,102°45'41"E)进行播种育苗,8 个月后幼苗中出现有腋芽和无腋芽(即腋芽暂时未生长)2 种生长状态的云南松幼苗,取无腋芽云南松幼苗(YNSN)新鲜健康幼嫩茎部与有腋芽云南松幼苗(YNSY)腋芽生长处茎部样品各 0.5 g,重复 3 次,共 6 份样品,样品编号分别记为 YNSN1~3 和

YNSY1~3。将样品迅速放入装有干冰的保温箱中,贮存于-80℃冰箱中备用。

1.2 试验方法

1.2.1 测序文库构建与测序 分别提取有腋芽和无腋芽 6 份云南松样品的总 RNA,经过质量浓度、纯度和总体品质检测后,用 mRNA 片段作为模板进行 cDNA 合成。接下来纯化生成的双链 cDNA,进行双末端修复,并在 3'端引入 A 碱基,同时连接测序接头。利用 AMPure XP beads 筛选出大小为 400~500 bp 的 cDNA 片段并进行 PCR 扩增,再次使用 AMPure XP beads 纯化 PCR 产物,最终得到文库。多个样品的 DNA 文库在均一化后混合,并逐步稀释定量,使用 Illumina 测序仪进行 PE150 模式的双末端测序。

1.2.2 测序数据组装 为了使转录组测序数据更加准确,采用 Cut adapt 去除含有接头的序列及低质量读段(reads),并对转录组测序数据进行质量评估,得到原始数据中测序碱基质量值(phred score)大于 20 或 30 的碱基数量占总碱基数量的百分比(即 Q20 与 Q30),再对 GC 含量分布进行检查,最终获得高质量的过滤后读段(clean reads)。因目前云南松没有全基因组序列,故从相关网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/3352/>)获取与云南松亲缘关系较近的火炬松基因组及基因模型注释文件,使用 HISAT2v2.0.5 将云南松过滤后读段与火炬松基因组进行比对,使用 HTSeq(0.9.1)统计比对到每一个基因上的原始定量值(read count),作为基因的原始表达量。为了使不同基因、不同样本间的基因表达水平具有可比性,采用 FPKM(即每千个碱基转录每百万映射读取的核酸片段,fragments per kilobase of transcript per million fragments mapped)对表达量进行标准化。

1.2.3 差异表达基因及其功能富集分析 使用 DESeq 软件(1.20.0)对无腋芽与有腋芽云南松茎部样品进行差异表达基因分析,将差异倍数(fold change, F_c)处理后,筛选出 $|F_c| > 1$ 、显著性 $P < 0.05$ 的基因即为差异表达基因,并采用 R 语言 ggplots2 软件包绘制差异表达基因的火山图。使用 topGO 对筛选出的差异表达基因进行 GO 富集分析,使用 clusterProfiler(3.4.4)软件进行 KEGG 通路富集分析。

1.2.4 差异表达基因的荧光定量 RT-qPCR 验证

从激素信号转导、淀粉和蔗糖代谢与糖酵解/糖异生代谢通路中选取 6 个差异表达基因,来验证转录

组数据的可靠性,其引物和内参基因序列见表 1。实时荧光定量 PCR 反应由 10 μ L PCR 反应体系(即 ddH₂O 3.6 μ L、2 \times PCR MIX 5 μ L、上游引物(F)0.2 μ L、下游引物(R)0.2 μ L、cDNA 1 μ L)组成,在 ABI QuantStudio6 PCR 仪上进行 3 次平行试

表 1 用于无腋芽或有腋芽云南松茎部 6 个差异表达基因荧光定量 RT-qPCR 的引物和内参基因序列

Table 1 Primers and reference gene sequences for fluorescence quantitative RT-qPCR of six differentially expressed genes in stems of *Pinus yunnanensis* with or without axillary buds

基因编号 ID Gene ID	基因名称 Gene name	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
PITA_00152	AUX/IAA13	TGACCCTGCACAAAGCTTCC	TGGCCTCCAATTCGGTTGTA
PITA_06874	GID2	TGCGTCAGCAACAAATGGAA	CTGCCACTCTGAAGCGAAG
PITA_47402	PP2C	CAAGAAAGCCGACACCATTGG	GGCTGCACCGTATTTTGACG
PITA_22168	SUS	CAGCAGGACCCCATACAG	TGCCTTTGTACAGCCTGCAC
PITA_05742	SUS	TGTTGTCCCGTGAGCCTCAG	AATGTCGCGCCTTGAGAAT
PITA_01907	β -FFase	AATTTGGTGGCCGTGACAGA	AAGGCGTGCATAACTGCTCG
PITA_43709(Actin)	LHC	ATATGACGGCGTCTGTCCG	AATCACCATGCGAAGAACCG

2 结果与分析

2.1 无腋芽与有腋芽云南松转录组测序数据质量评估

使用 Illumina Hiseq 测序技术对无腋芽云南松(样品编号 YNSN1、YNSN2、YNSN3)和有腋芽云南松(样品编号 YNSY1、YNSY2、YNSY3)进行高通量转录组测序,结果(表 2)显示,6 个样品分别得

表 2 无腋芽和有腋芽云南松茎部高通量转录组测序数据统计

Table 2 High-throughput transcriptome sequencing data of stems of *Pinus yunnanensis* with and without axillary buds

样品编号 Sample ID	原始读段 Raw reads	过滤后读段 Clean reads	过滤后读段占比/% The proportion of clean reads	Q20/%	Q30/%	GC 含量/% GC content
YNSN1	45 747 800	43 044 998	94.09	98.33	94.65	45.23
YNSN2	44 891 700	42 252 016	94.11	98.39	94.82	45.16
YNSN3	43 769 372	41 145 290	94.00	98.50	95.12	45.23
YNSY1	44 403 916	41 778 154	94.08	98.33	94.65	45.12
YNSY2	53 461 998	40 903 690	94.11	98.36	94.68	45.15
YNSY3	40 480 984	38 069 704	94.04	98.32	94.64	45.09

注:Q20(%). 识别准确率在 99% 以上的碱基数占总碱基的百分比;Q30(%). 识别准确率在 99.9% 以上的碱基数占总碱基的百分比。

Note:Q20(%). The percentage of bases with recognition accuracy above 99% in total bases;Q30(%). The percentage of bases with recognition accuracy of more than 99.9% in total bases.

2.2 无腋芽与有腋芽云南松差异表达基因分析

为了进一步了解有腋芽与无腋芽云南松的转录组特征,分析比较了二者的差异表达基因,结果(图 1)显示,共有差异表达基因 1 420 个,与无腋芽云南松相比,有腋芽云南松上调表达的差异基因有 524 个,下调表达的差异基因有 896 个,表明云南松在生长腋芽之后,其体内大多数基因的表达都受到了一定影响。

2.3 无腋芽与有腋芽云南松差异表达基因的功能富集分析

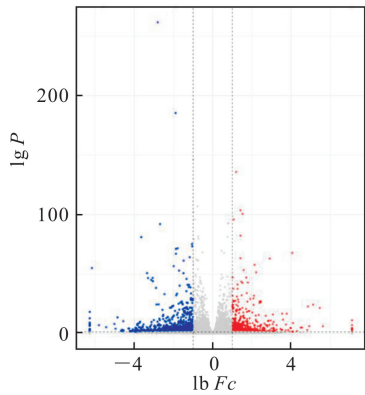
2.3.1 GO 富集分析 为了进一步了解差异表达

基因的功能,使用 topGO 对无腋芽与有腋芽云南松转录组差异表达基因进行 GO 富集分析,结果(图 2)显示可将其功能主要分为细胞组分、分子功能和生物过程 3 类。其中在细胞组分类别中,差异表达基因被归类到亚类中的数量从多到少依次为胞外区、膜、细胞解剖实体部分等;在分子功能中,注释为催化活性的差异表达基因最多,其次为电子传递活性、氧化还原酶、抗氧化活性等;在生物过程中,差异表达基因集中注释在细胞杀伤和刺激响应过程中。另外发现,与激素或糖相关的差异表达基因被注释在催化活性、共质体、刺激响应、细胞解剖实体等亚

到 45 747 800,44 891 700,43 769 372,44 403 916,53 461 998 和 40 480 984 条原始读段,对原始数据过滤质控后,最终分别得到 43 044 998,42 252 016,41 145 290,41 778 154,40 903 690 和 38 069 704 条过滤后读段,6 个样品过滤后读段占比均在 94% 以上,Q20 占比均大于 98% 且 Q30 占比均大于 94%,GC 含量均超过 45%,表明最终得到的转录组数据比较可靠,可用于后续基因差异表达分析。

到 45 747 800,44 891 700,43 769 372,44 403 916,53 461 998 和 40 480 984 条原始读段,对原始数据过滤质控后,最终分别得到 43 044 998,42 252 016,41 145 290,41 778 154,40 903 690 和 38 069 704 条过滤后读段,6 个样品过滤后读段占比均在 94% 以上,Q20 占比均大于 98% 且 Q30 占比均大于 94%,GC 含量均超过 45%,表明最终得到的转录组数据比较可靠,可用于后续基因差异表达分析。

类中,例如 PITA_05742、PITA_22168、PITA_00152 等。



蓝色点、红色点以及灰色点分别代表下调表达基因、上调表达基因和无差异表达基因;Fc 表示差异表达倍数,P 表示差异显著性,图 2 同。

Blue dots, red dots and gray dots represent down-regulated, up-regulated and undifferentially expressed genes, respectively.

Fc indicates the differential expression multiple,

P indicates the significant difference, and Fig. 2 is the same.

图 1 无腋芽与有腋芽云南松差异表达基因火山图

Fig. 1 Volcanic diagram of differentially expressed genes in

Pinus yunnanensis with and without axillary buds

2.3.2 KEGG 富集分析 为了解上述差异表达基

因在植物体内所行使的功能,对其进行 KEGG 通路分析,结果发现 479 个差异表达基因在 89 个通路上进行富集。为了突出研究最显著的富集通路,在图 3 中展示了其中富集程度最高的前 20 个通路,以错误发现率(false discovery rate, FDR)小于 0.5 作为显著富集标准,共有 15 条显著富集的通路。图 3 显示,富集通路按照富集程度从高到低依次为苯丙素生物合成、类黄酮生物合成、角质-亚蜡和蜡生物合成、氮代谢、脂肪酸延伸、萜类骨架生物合成、二萜生物合成、过氧化物酶体、单萜类化合物生物合成、果糖和甘露糖代谢、亚麻酸代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢、MAPK 信号通路-植物、脂肪酸降解、昼夜节律-植物、谷胱甘肽代谢、植物-病原互作、糖酵解/糖异生、玉米素生物合成以及硒代谢。其中,富集差异表达基因数量最多的是苯丙素生物合成(在 KEGG 中的编号为 ko00940),共有 48 个差异表达基因参与到此合成通路中。结合富集分析结果及前人研究结果推测,云南松基因可能通过玉米素生物合成及糖酵解/糖异生显著富集通路参与腋芽生长的响应,说明在植物激素及糖代谢通路上存在利于云南松腋芽生长的候选基因。

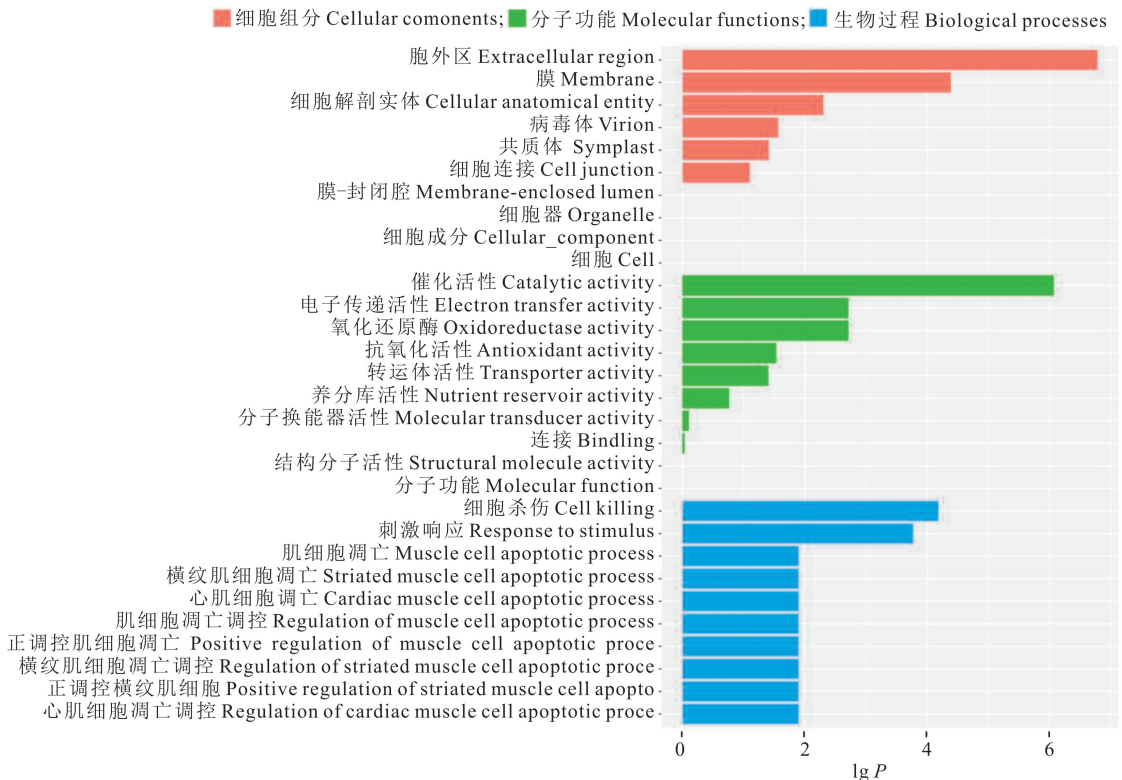


图 2 无腋芽与有腋芽云南松差异表达基因功能的 GO 富集分析

Fig. 2 GO enrichment analysis of differentially expressed gene function in *Pinus yunnanensis* with and without axillary buds

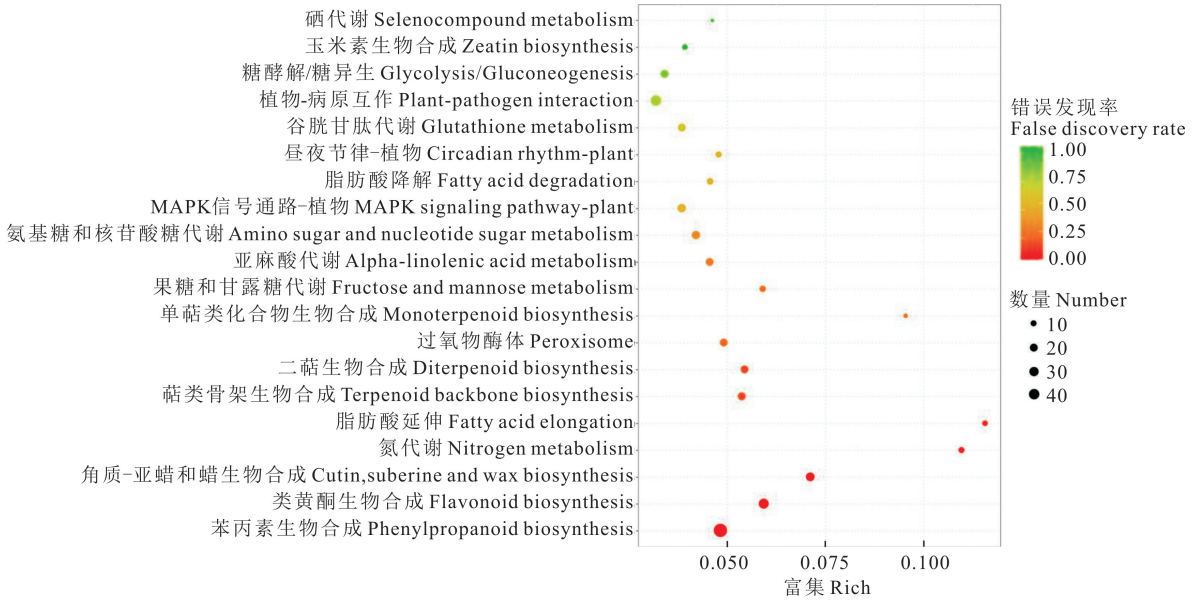


图 3 无腋芽与有腋芽云南松差异表达基因显著富集的前 20 个 KEGG 通路

Fig. 3 The first 20 significant enriched KEGG pathways for differentially expressed genes in *Pinus yunnanensis* with and without axillary buds

2.4 无腋芽与有腋芽云南松在激素代谢通路上的差异表达基因

植物激素在植物腋芽生长发育过程中发挥着非常重要的调控作用。无腋芽与有腋芽云南松在激素代谢通路上注释到 6 个差异表达基因,与无腋芽云南松相比,有腋芽云南松有 5 个基因下调表达,1 个基因上调表达(表 3)。生长素 IAA 信号转导过程中的关键基因生长素/吲哚乙酸反应基因(AUX/IAA13)在生长素信号转导通路上表达上调,在赤霉

素信号转导通路上 F-box 蛋白 GID2 涉及 1 个差异基因下调表达,脱落酸信号转导通路中关键基因 PP2C 涉及 1 个差异基因下调表达,在茉莉酸信号转导通路上调调控蛋白 TIFY 涉及 2 个差异基因下调表达,在水杨酸信号转导通路上调 bZIP 转录因子涉及 1 个差异基因下调表达。赤霉素、脱落酸、茉莉酸、水杨酸关键合成基因的下调及生长素关键合成基因的上调,可能是云南松腋芽打破休眠及生长发育的主要原因。

表 3 无腋芽与有腋芽云南松激素代谢相关基因的功能描述

Table 3 Functional description of genes related to hormone metabolism in *Pinus yunnanensis* with and without axillary buds

基因编号 Gene ID	lb <i>F_c</i>	<i>P</i>	通路 Pathway	描述 Description
PITA_00152	1.170	4.42×10^{-4}	生长素信号转导通路 Auxin signaling pathway	生长素/吲哚乙酸反应基因(AUX/IAA13) Auxin-responsive gene AUX/IAA13
PITA_06874	-3.246	6.09×10^{-3}	赤霉素信号转导通路 Gibberellin signaling pathway	F-box 蛋白(GID2) F-box protein GID2
PITA_47402	-12.540	8.73×10^{-3}	脱落酸信号转导通路 Abscisic acid signaling pathway	蛋白磷酸酶 2C(PP2C) Protein phosphatase 2C
PITA_24304	-4.153	7.87×10^{-3}	茉莉酸信号转导通路 Jasmonic acid signaling pathway	TIFY 家族蛋白(TIFY10a) TIFY family protein TIFY10a
PITA_22324	-3.004	3.24×10^{-2}	茉莉酸信号转导通路 Jasmonic acid signaling pathway	TIFY 家族蛋白(TIFY10b) TIFY family protein TIFY10b
PITA_36148	-1.241	2.83×10^{-2}	水杨酸信号转导通路 Salicylic acid signaling pathway	bZIP 转录因子(TGA10) bZIP transcription factor TGA10

注:*F_c* 表示差异表达倍数,*P* 表示差异显著性,表 4 同。

Note:*F_c* indicates the differential expression multiple,*P* indicates the significant difference,and table 4 is the same.

2.5 无腋芽与有腋芽云南松在淀粉和蔗糖代谢、糖酵解/糖异生代谢通路上的差异表达基因

除激素对植物腋芽萌发具有调控作用外,蔗糖对腋芽生长萌发也具有重要影响。在无腋芽与有腋

芽云南松淀粉和蔗糖代谢、糖酵解/糖异生代谢通路上共注释到 6 个差异表达基因(表 4)。与无腋芽云南松相比,有腋芽云南松在淀粉和蔗糖代谢、糖酵解/糖异生代谢通路上有 3 个差异基因上调表达,另

有 3 个差异基因在蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthase, SPS)以及 β -呋喃果糖苷酶(β -fructofuranosidase, β -FFase)合成过程中下调表达。从代谢通路上可以观察到,在云南松腋芽生长发育过程

中,蔗糖合成相关基因均表现出上调表达,而蔗糖转化为葡萄糖及果糖的相关基因下调表达,导致云南松苗木体内蔗糖大量积累,从而促进了腋芽的生长发育。

表 4 无腋芽与有腋芽云南松淀粉和蔗糖代谢、糖酵解/糖异生代谢相关基因的功能描述

Table 4 Functional description of genes related to starch, sucrose metabolism, and glycolysis/ gluconeogenesis metabolisms in *Pinus yunnanensis* with and without axillary buds

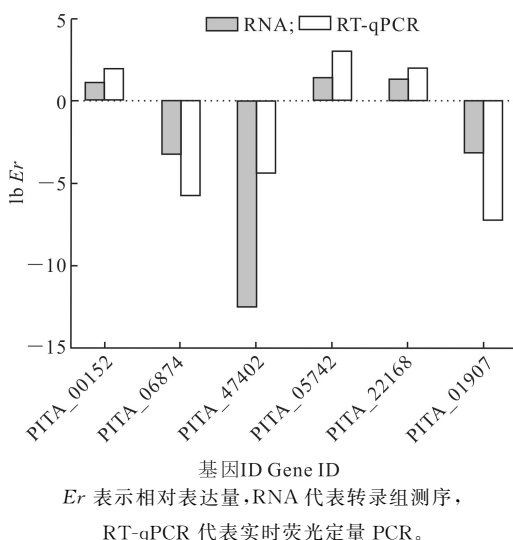
基因编号 Gene ID	lb Fc	P	描述 Description
PITA_00725	1.378	6.36×10^{-3}	尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UDP) UDP-glucose pyrophosphorylase
PITA_05742	1.477	8.48×10^{-33}	蔗糖合成酶(SUS) Sucrose synthase
PITA_22168	1.420	5.57×10^{-83}	蔗糖合成酶(SUS) Sucrose synthase
PITA_27985	-1.108	5.58×10^{-3}	蔗糖磷酸合成酶(SPS) Sucrose-phosphate synthase
PITA_01907	-3.150	6.32×10^{-4}	β -呋喃果糖苷酶(β -FFase) Beta-fructofuranosidase
PITA_05183	-1.559	8.16×10^{-3}	β -呋喃果糖苷酶(β -FFase) Beta-fructofuranosidase

2.6 无腋芽与有腋芽云南松差异表达基因的 RT-qPCR 验证

依据对代谢通路上差异表达基因的功能注释分析以及前人研究结果,筛选出与云南松腋芽生长相关的 6 个候选基因,包括生长素代谢相关基因 *AUX/IAA13*(PITA_00152)、赤霉素代谢相关基因 *GID2*(PITA_06874)、脱落酸代谢相关基因 *PP2C*(PITA_47402)、糖代谢相关基因蔗糖合成酶 *SUS*(PITA_05742 和 PITA_22168)和 β -呋喃果糖苷酶 β -*FFase*(PITA_01907),对其进行荧光定量分析,结果(图 4)显示,各基因表达趋势与转录组分析结果一致,表明转录组数据较为可靠。

3 讨论

为深入了解云南松腋芽的生长发育过程,本研究运用转录组高通量测序技术对云南松腋芽生长发育的调控机制进行探讨,对不同腋芽形态分化阶段的云南松苗木进行转录组测序,研究结果可在一定程度上解析云南松腋芽生长发育的分子调控模式与机制,为进一步夯实腋芽发育分子机制研究奠定了基础,也为云南松腋芽调控和分子育种提供了可利用的基因资源。转录组可以反映不同环境条件下基因的表达情况^[24],在对许多物种的研究中,转录组数据分析被应用于观察整体基因表达的变化^[25-28]。迄今为止,关于云南松腋芽生长后的转录水平研究较为有限,而且对不同处理或不同生长状态下云南松转录水平的表达模式研究也相对较少。张琳宜等^[29]通过转录组测序技术,研究了氮磷配施对平茬后云南松苗木萌蘖能力的影响;王丽娜等^[30]为探究干旱胁迫下云南松幼苗的分子调控机制,对重度干旱胁迫和未经胁迫的云南松幼苗进行了转录组测序分析;蔡年辉等^[31]对云南松植株的幼嫩针叶进行转录组测序,并利用转录组中产生的 Unigene,对云南松的转录组进行了分析,研究了云南松 SSR 位点的分布情况以及序列特征。在本研究中,为了解云南松腋芽生长后的转录组水平变化,对无腋芽与有腋芽云南松进行了转录组测序,并筛选了差异表达基因。从 GO 功能富集分析来看,主要表现在以下几个方面:在细胞组分方面,胞外区的差异表达基因居多;在分子功能中,富集到催化活性的差异表达基因最多;而在生物过程中,细胞杀伤和刺激响应方面的差异表达基因居多。这与前人利用转录组测序研究烟草幼苗胁迫结果有相似之处^[32],说明腋芽生长有



Er indicates relative expression, RNA-seq indicates transcriptome sequencing and RT-qPCR indicates real-time fluorescence quantitative PCR.

图 4 无腋芽与有腋芽云南松差异表达基因的 RT-qPCR 验证

Fig. 4 RT-qPCR identification of differentially expressed genes in *Pinus yunnanensis* with and without axillary buds

利于提高云南松在逆境下的抗胁迫能力。本研究中 KEGG 代谢途径分析结果显示,苯丙素生物合成通路富集的差异表达基因最多,苯丙素生物合成途径中的次生代谢物木质素能够增强细胞壁的保护作用^[33],推测随着腋芽的生长发育,可以增加云南松苗木体内木质素的合成,说明这条通路可能在腋芽生长中扮演着关键角色,在此通路上可能存在着影响云南松腋芽生长调控的关键因子。

在腋芽处于休眠或打破休眠的过程中,植物体内的激素信号分子发挥着关键的生理调节作用^[34]。本研究结果显示,在无腋芽与有腋芽云南松生长素、赤霉素、脱落酸、茉莉酸以及水杨酸的合成代谢途径上均存在差异表达基因,这与前人研究结果^[35]有一定相似性。同时有研究表明,生长素是调控腋芽生长发育的主要激素^[36],并且腋芽中的细胞代谢、信号转导等生理生化过程均会受到生长素的影响,从而调节植物腋芽发育^[37]。生长素信号转导的主要路径是 *AUX/IAA* 基因降解生长素结合蛋白 *SCF^{TIR/AFB}*,然后再刺激生长素响应因子 *ARF* 调控下游基因的表达^[38]。所以在本研究中,*AUX/IAA* 的上调表达使生长素含量发生改变,从而对云南松腋芽的生长发育产生了一定影响。而前人在对番茄的研究中发现,沉默番茄中的 *IAA15* 基因会使腋芽性状表型发生改变^[39]。在削弱马尾松的顶端优势后,不仅可促进植株腋芽萌发生长,而且还可使 *AUX1*、*AUX/IAA*、*ARF* 等 *IAA* 响应因子呈现出上调表达模式^[40]。因此,本研究中 *AUX/IAA* 基因在代谢通路上的表达显著上调,可能会促进腋芽的生长发育。独脚金内酯是调控腋芽生长的重要激素,独脚金内酯合成途径中的基因功能缺陷型突变,通常会导致植物分蘖和分枝数量增加^[41]。ITO 等^[42]发现,在 *GID2* 突变体水稻中,独脚金内酯含量低于野生型。因此在本研究中,赤霉素代谢通路上的 *GID2* 表达下调,可能会使云南松体内独角金内酯含量降低,从而促进腋芽的生长发育。有研究发现,在即将进入休眠或已经处于休眠状态的腋芽中脱落酸含量最高,然而在植物腋芽打破休眠后,脱落酸含量会缓慢减少^[34],可能这就是 *PP2C* 基因在腋芽生长后表达下调的原因。有研究表明,外源喷施赤霉素可以通过抑制分枝遏制因子 *BRC1* 的表达,从而打破麻风树的腋芽休眠,促进腋芽生长^[43]。因此,在以后可通过喷施外源激素的方式来促进云南松腋芽的生长发育,进一步夯实云南松无性繁殖的基础,推动云南松无性繁殖的发展。

在以往研究中发现,不仅植物激素对腋芽生长具有一定的调控作用,糖对腋芽生长也有重要影响^[44]。有研究表明,糖对植物体内生长素合成基因具有刺激作用,可以进一步提高植物体内生长素的浓度^[45];并且前人研究得出,蔗糖不仅是腋芽萌发的主要能量来源,而且是植物体内重要的信号转导物质之一,在腋芽萌发及其生长过程中发挥着重要作用^[46]。蔗糖合成酶是一种既能分解蔗糖又能合成蔗糖的双功能酶,可以催化蔗糖与葡萄糖和果糖之间的可逆反应^[47]。本研究发现,在腋芽生长发育过程中,调控蔗糖转化的蔗糖合成酶 *SUS* 基因表达上调,这与烟草去顶后诱导腋芽生长的转录组分析结果有相似之处,因此其可能会在蔗糖快速分解的过程中促进腋芽的生长发育^[48]。此外,低活性的 β -呋喃果糖苷酶可以催化蔗糖转化为果糖与葡萄糖,以满足植物对碳和能量的需求^[49]。由此可见,糖代谢通路上的 β -呋喃果糖苷酶表达下调,可以为腋芽生长发育提供充足的能量。另外,本研究对生长素、赤霉素、脱落酸代谢通路以及蔗糖与淀粉代谢、糖酵解/糖代谢通路上筛选出的 6 个候选基因进行荧光定量表达验证,结果显示基因表达趋势与转录组数据较为一致,说明转录组测序数据比较可靠,并且在腋芽生长发育中发挥着一定的作用。综上所述,由于腋芽生长导致云南松内源激素及糖代谢相关基因发生显著下调或上调表达,这与前人对腋芽生长发育过程中相关基因进行定量表达所得到的结果^[50-51]基本一致。

4 结 论

本研究通过转录组测序技术对云南松腋芽生长转录调控机制进行解析,共筛选出了 1 420 个差异表达基因。对差异基因进行 GO 与 KEGG 通路富集分析发现,在苯丙素生物合成通路上富集的差异基因数量最多,表明腋芽的生长发育,有利于提高云南松在逆境下的抗胁迫能力。根据基因在植物激素代谢及糖代谢通路上的表达变化,筛选出 6 个可能与腋芽生长发育有关的差异表达基因,为后续云南松腋芽生长相关基因的克隆及功能验证奠定了基础。

[参考文献]

[1] 戴开结,何方,沈有信,等. 云南松研究综述 [J]. 中南林学院学报, 2006, 26(2): 138-142.

DAI K J, HE F, SHEN Y X, et al. Advances in the research on

- Pinus yunnanensis* forest [J]. Journal of Central South Forestry University, 2006, 26(2): 138-142.
- [2] 邓喜庆, 皇宝林, 温庆忠, 等. 云南松林在云南的分布研究 [J]. 云南大学学报(自然科学版), 2013, 35(6): 843-848.
DENG X Q, HUANG B L, WEN Q Z, et al. A research on the distribution of *Pinus yunnanensis* forest in Yunnan Province [J]. Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition), 2013, 35(6): 843-848.
- [3] 周驰宇, 蔡年辉, 李伟, 等. 不同氮磷基肥配比对云南松幼苗生长的影响 [J/OL]. 分子植物育种 (2024-01-03) [2024-01-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240102.1630.014.html>.
ZHOU C Y, CAI N H, LI W, et al. Effects of nitrogen and phosphorus-based fertilizer on the growth of *Pinus yunnanensis* seedlings [J/OL]. Molecular Plant Breeding (2024-01-03) [2024-01-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240102.1630.014.html>.
- [4] 王丹, 李亚麒, 陈林, 等. 平茬季节对云南松苗木萌蘖与内源激素关系的影响 [J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(5): 853-861.
WANG D, LI Y Q, CHEN L, et al. Effects of stumping season on the relationship between sprouting and endogenous hormones of *Pinus yunnanensis* seedlings [J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2022, 37(5): 853-861.
- [5] CHUCK G, MUSZYNSKI M, KELLOGG E, et al. The control of spikelet meristem identity by the branched silkless1 gene in maize [J]. Science, 2002, 298(5596): 1238-1241.
- [6] HIRANO H Y, TANAKA W. Stem cell maintenance in the shoot apical meristems and during axillary meristem development [J]. Cytologia, 2020, 85(1): 3-8.
- [7] 史晓霞. RNA干涉PtBRC1基因增加杨树分枝 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.
SHI X X. RNA interference with the PtBRC1 gene increases poplar branching [D]. Guiyang: Guizhou University, 2022.
- [8] BYRNE M E. Shoot meristem function and leaf polarity: the role of class III HD-ZIP genes [J]. PLoS Genetics, 2006, 2(6): e89.
- [9] SHIMIZU-SATO S, MORI H. Control of outgrowth and dormancy in axillary buds [J]. Plant Physiology, 2001, 127(4): 1405-1413.
- [10] 梁锐涛, 韩维栋, 杨少瑕, 等. 无瓣海桑响应盐胁迫的转录组分析 [J]. 林业科学研究, 2023, 36(1): 68-78.
LIANG R T, HAN W D, YANG S X, et al. Transcriptome analysis of *Sonneratia apetala* root in response to salt stress [J]. Forest Research, 2023, 36(1): 68-78.
- [11] 郜新强, 王小艳, 焦伟, 等. 金丝楸幼苗响应盐碱胁迫的生理和转录组分析 [J]. 林业科学研究, 2023, 36(1): 166-178.
GAO X Q, WANG X Y, JIAO W, et al. Physiological and transcriptomic analysis of *Catalpa bungei* seedlings in response to saline-alkali stresses [J]. Forest Research, 2023, 36(1): 166-178.
- [12] 范吴蔚. 独脚金内酯对烟草腋芽休眠及侧枝生长的影响与转录组研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2021.
FAN W W. Effects of strigolactone on dormancy and lateral branch growth of tobacco axillary buds and transcriptome study [D]. Guiyang: Guizhou University, 2021.
- [13] 檀鸣. 苹果MdWUS2介导细胞分裂素抑制MdTCP12调控腋芽萌发的分子机制研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
TAN M. Molecular mechanism of MdWUS2 mediating cytokinin inhibition of MdTCP12 in regulating axillary bud outgrowth in *Malus* [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2019.
- [14] ZHANG Y, DU D D, WEI H L, et al. Transcriptomic and hormone analyses provide insight into the regulation of axillary bud outgrowth of *Eucommia ulmoides* Oliver [J]. Current Issues in Molecular Biology, 2023, 45(9): 7304-7318.
- [15] SALINAS-GRENET H, HERRERA-VÁSQUEZ A, PARRA S, et al. Modulation of auxin levels in pollen grains affects stamen development and anther dehiscence in *Arabidopsis* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(9): 2480.
- [16] WAQAS M, KHAN A L, SHAHZAD R, et al. Mutualistic fungal endophytes produce phytohormones and organic acids that promote japonica rice plant growth under prolonged heat stress [J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2015, 16(12): 1011-1018.
- [17] SINGH V K, JAIN M, GARG R. Genome-wide analysis and expression profiling suggest diverse roles of *GH3* genes during development and abiotic stress responses in legumes [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 5: 789.
- [18] CACKETT L, CANNISTRACI C V, MEIER S, et al. Salt-specific gene expression reveals elevated auxin levels in *Arabidopsis thaliana* plants grown under saline conditions [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 804716.
- [19] 张海燕, 孙雪, 于辉, 等. 赤霉素和细胞分裂素对狗牙根分蘖的影响 [J]. 中国草地学报, 2023, 45(10): 46-57.
ZHANG H Y, SUN X, YU H, et al. Effects of gibberellin and cytokinin on tillering of *Cynodon dactylon* L. [J]. Chinese Journal of Grassland, 2023, 45(10): 46-57.
- [20] 范业康, 陈荣发, 周慧文, 等. 不同植物生长调节剂浸种对甘蔗分蘖及产量性状的影响 [J]. 中国糖料, 2019, 41(2): 23-27.
FAN Y G, CHEN R F, ZHOU H W, et al. Effects of seed-cane soaking by various plant growth regulators on tillering and yield traits of sugarcane [J]. Sugar Crops of China, 2019, 41(2): 23-27.
- [21] 陈奋奇, 张金青, 马晖玲. 激素调控植物分枝/分蘖的研究进展 [J]. 草业学报, 2024, 33(2): 212-215.
CHEN F Q, ZHANG J Q, MA H L. Progress of research on hormone regulation of branching or tillering in plants [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2024, 33(2): 212-215.
- [22] LIU X, HU Q L, YAN J J, et al. ζ -carotene isomerase suppresses tillering in rice through the coordinated biosynthesis

- of strigolactone and abscisic acid [J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(12):1784-1801.
- [23] 蔡年辉,邓丽丽,许玉兰,等. 基于高通量测序的云南松转录组分析 [J]. *植物研究*, 2016, 36(1):75-83.
CAI N H, DENG L L, XU Y L, et al. Transcriptome analysis for *Pinus yunnanensis* based on high throughput sequencing [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2016, 36(1):75-83.
- [24] DAL MOLIN A, BARUZZO G, DI CAMILLO B. Single-cell RNA-sequencing: assessment of differential expression analysis methods [J]. *Frontiers in Genetics*, 2017, 8:62.
- [25] 付钰,贾瑞瑞,何荷,等. 两种砧木橄榄嫁接苗生长差异及转录组比较分析 [J]. *生物技术通报*, 2023, 39(8):251-261.
FU Y, JIA R R, HE H, et al. Growth differences among grafted seedlings with two rootstocks of *Catalpa bungei* and comparative analysis of transcriptome [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(8):251-261.
- [26] 郭伟,韩秀,张利,等. 青檀扦插苗对不同氮素水平的形态、光合生理响应和转录组分析 [J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2023, 47(5):87-96.
GUO W, HAN X, ZHANG L, et al. Morphological, photosynthetic physiological and transcriptome analysis of *Pteroceltis tatarinowii* in response to different nitrogen application levels [J]. *Journal of Nanjing Forestry University(Natural Sciences Edition)*, 2023, 47(5):87-96.
- [27] 吴杨,郑亿磊,罗志强,等. 油茶响应不同光照强度的转录组分析 [J]. *南方农业学报*, 2023, 54(3):839-848.
WU Y, ZHENG Y L, LUO Z Q, et al. Transcriptome analysis of *Camellia oleifera* in response to different light intensities [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2023, 54(3):839-848.
- [28] 孙源长,罗琳,林辉,等. 芦竹茎对盐胁迫响应的转录组分析 [J]. *西南农业学报*, 2022, 35(12):2708-2718.
SUN Y C, LUO L, LIN H, et al. Transcriptome analysis of *Arundo donax* stems under salt stress [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35(12):2708-2718.
- [29] 张琳宜,汪梦婷,聂婷,等. 云南松苗木萌蘖能力的转录组分析 [J/OL]. *分子植物育种* (2023-06-25) [2023-12-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230621.1818.002>.
ZHANG L Y, WANG M T, NIE T, et al. Transcriptome study on tillering ability of *Pinus yunnanensis* seedlings [J/OL]. *Molecular Plant Breeding* (2023-06-25) [2023-12-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230621.1818.002>.
- [30] 王丽娜,吴俊文,胡昊程,等. 干旱胁迫下云南松幼苗的转录组差异分析 [J/OL]. *分子植物育种* (2022-07-13) [2023-12-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220712.1646.008>.
WANG L N, WU J W, HU H C, et al. Differential analysis of the transcriptome of *Pinus yunnanensis* seedlings under drought stress [J/OL]. *Molecular Plant Breeding* (2022-07-13) [2023-12-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220712.1646.008>.
- [31] 蔡年辉,许玉兰,徐杨,等. 云南松转录组 SSR 的分布及其序列特征 [J]. *云南大学学报(自然科学版)*, 2015, 37(5):770-778.
CAI N H, XU Y L, XU Y, et al. The distribution and characteristics of SSR in the transcriptome of *Pinus yunnanensis* [J]. *Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition)*, 2015, 37(5):770-778.
- [32] 关晓溪,隋常玲,陈瑶,等. 烟草幼苗响应弱光胁迫的转录组分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2021, 40(1):315-324.
GUAN X X, SUI C L, CHEN Y, et al. Transcriptome analysis of the response of tobacco seedlings to low light stress [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2021, 40(1):315-324.
- [33] REZAI E R, ABDOLLAHI MANDOULAKANI B, Fattahi M. Cold stress changes antioxidant defense system, phenylpropanoid contents and expression of genes involved in their biosynthesis in *Ocimum basilicum* L. [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10:5290.
- [34] 朱小坤. 马尾松短枝腋芽休眠解除的发育进程及转录组学分析 [D]. 贵阳:贵州大学, 2019.
ZHU X K. Development and transcriptome analysis of dormancy-release of axillary buds on short branches of *Pinus massoniana* [D]. Guiyang: Guizhou University, 2019.
- [35] BI Y D, WEI Z G, SHEN Z, et al. Comparative temporal analyses of the *Pinus sylvestris* L. var. *mongolica litv.* apical bud proteome from dormancy to growth [J]. *Molecular Biology Reports*, 2011, 38(2):721-729.
- [36] THIMANN K, SKOOG F. On the inhibition of bud development and other functions of growth substance in vicia faba [J]. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 1934, 114(789):317-339.
- [37] FERGUSON B J, BEVERIDGE C A. Roles for auxin, cytokinin, and strigolactone in regulating shoot branching [J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(4):1929-1944.
- [38] SALEHIN M, BAGCHI R, ESTELLE M. SCFTIR1/AFB-based auxin perception: mechanism and role in plant growth and development [J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(1):9-19.
- [39] LUO J, ZHOU J J, ZHANG J Z. Aux/IAA gene family in plants: molecular structure, regulation, and function [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(1):259.
- [40] 石长双. 马尾松短枝腋芽萌发关键基因的挖掘 [D]. 贵阳:贵州大学, 2020.
SHI C S. Mining key genes of axillary bud germination of *Pinus massoniana* short branches [D]. Guiyang: Guizhou University, 2020.
- [41] 陈佳佳. 赤霉素调控 PpMAX4 和 PpLBO1 促进桃树腋芽萌发的机理初探 [D]. 郑州:河南农业大学, 2022.
CHEN J J. Mechanism of gibberellin regulating PpMAX4 and PpLBO1 to promote axillary bud germination of peach trees [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2022.
- [42] ITO S, Yamagami D, Umehara M, et al. Regulation of strigolactone biosynthesis by gibberellin signaling [J]. *Plant Physiology*, 2017, 174(2):1250-1259.

- [23] LI X,ZHANG L,AHAMMED G J, et al. Nitric oxide mediates brassinosteroid-induced flavonoid biosynthesis in *Camellia sinensis* L. [J]. Journal of Plant Physiology, 2017, 214(7):145-151.
- [24] OREN-SHANIR M. Does anthocyanin degradation play a significant role in determining pigment concentration in plants? [J]. Plant Science, 2009, 177(4):310-316.
- [25] 李莹,张广辉,王前,等. 茉莉酸甲酯对三七叶总黄酮含量及其应答基因表达量的影响 [J]. 中草药, 2023, 54(2):631-640.
- LI Y,ZHANG G H,WANG Q, et al. Effect of methyl jasmonate on total flavonoids content and expression of responsive genes in *Panax notoginseng* leaves [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54(2):631-640.
- [26] OHNO S,HOSOKAWA M,KOJIMA M, et al. Simultaneous post-transcriptional gene silencing of two different chalcone synthase genes resulting in pure white flowers in the *Octoploid dahlia* [J]. Planta, 2011, 234(5):945-958.
- [27] 黄虎,马先进,李思佳,等. 山茶 *CjMYB1* 基因的克隆及表达分析 [J]. 西北植物学报, 2022, 42(3):381-389.
- HUANG H,MA X J,LI S J, et al. Molecular cloning and expression analysis of *CjMYB1* in *Camellia japonica* [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2022, 42(3):381-389.
- [28] SCHILBERT H M,GLOVER B J. Analysis of flavonol regulator evolution in the Brassicaceae reveals *MYB12*, *MYB111* and *MYB21* duplications and *MYB11* and *MYB24* gene loss [J]. Bmc Genomics, 2022, 23(1):17.
- [29] LIU X T,LIU H F,TIAN B M, et al. Metabolome and transcriptome analyses of anthocyanin biosynthesis reveal key metabolites and candidate genes in purple wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Physiologia Plantarum, 2023, 175(3):15.

(责任编辑:霍振响)

(上接第 58 页)

- [43] NI J,GAO C C,CHEN M S, et al. Gibberellin promotes shoot branching in the perennial woody plant *Jatropha curcas* [J]. Plant and Cell Physiology, 2015, 56(8):1655-1666.
- [44] LI L J,QIAO Y,QI X Y, et al. Sucrose promotes branch-thorn occurrence of *Lycium ruthenicum* through dual effects of energy and signal [J]. Tree Physiology, 2023, 43(7):1187-1200.
- [45] LJUNG K,NEMHAUSER J L,PERATA P. New mechanistic links between sugar and hormone signalling networks [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2015, 25:130-137.
- [46] RABOT A,HENRY C,BEN BAAZIZ K, et al. Insight into the role of sugars in bud burst under light in the rose [J]. Plant and Cell Physiology, 2012, 53(6):1068-1082.
- [47] 冯立娟,程云,杨雪梅,等. 石榴蔗糖合成酶基因家族鉴定与表达模式分析 [J/OL]. 分子植物育种 (2023-09-22) [2024-01-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230921.1938.014.html>.
- FENG L J,CHENG Y,YANG X M, et al. Identification and expression pattern analysis of sucrose synthase gene family in pomegranate [J/OL]. Molecular Plant Breeding (2023-09-22) [2024-01-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230921.1938.014.html>.
- [48] JI X M,VAN DEN ENDE W,VAN LAERE A, et al. Structure, evolution, and expression of the two invertase gene families of rice [J]. Journal of Molecular Evolution, 2005, 60(5):615-634.
- [49] 胡瑞芳,姜慧,李玥莹. 蔗糖代谢相关酶的研究进展 [J]. 北方园艺, 2012(1):167-170.
- HU R F,JIANG H,LI Y Y. Research advance on sucrose synthesise enzymes [J]. Northern Horticulture, 2012(1):167-170.
- [50] 王卫锋. 烟草打顶诱导的腋芽转录组分析及相关基因功能研究 [D]. 北京:中国农业科学院, 2019.
- WANG W F. Transcriptomic analysis of topping-induced axillary shoots outgrowth and functional research of related genes in tobacco (*Nicotiana tabacum*) [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.
- [51] YANG L W,ZHU S,XU J. Roles of auxin in the inhibition of shoot branching in ‘Dugan’ fir [J]. Tree Physiology, 2022, 42(7):1411-1431.

(责任编辑:窦春蕊)