

马尾松不同分枝类型的顶芽内源激素、转录组与代谢组分析

李倚帆^{1,2}, 陈新华², 杨章旗^{2*}, 冯源恒², 朱振文³

(1. 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林, 541006; 2. 广西壮族自治区林业科学研究院, 国家林业和草原局马尾松工程技术研究中心, 广西马尾松工程技术研究中心, 广西优良用材林资源培育重点实验室, 南宁, 530002; 3. 广西壮族自治区国有钦廉林场, 广西钦州, 547200)

摘要: 对通直度、节间长、分枝等性状的改良是马尾松育种的重要目标, 其中分枝直接影响其干形和木材产量。为探究马尾松不同分枝类型形成的机制, 该研究以狐尾型、多干型与正常类型马尾松为对象, 对顶芽的激素含量、代谢组和转录组进行分析。结果表明: (1) 3种分枝类型马尾松顶芽的生长素、细胞分裂素、脱落酸、赤霉素的含量存在显著差异, 表现为多干型>正常分枝>狐尾型; 狐尾型的 IAA/ABA 和 IAA/CTK 的比值最大, 多干型最小。激素物质主要富集在植物激素信号转导途径、玉米素生物合成等通路。(2) 差异表达基因 KEGG 分析显著富集到玉米素生物合成、氨基酸代谢、戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化等通路, 进一步筛选获得植物激素信号转导途径相关的差异表达基因 35 个。(3) 联合分析发现, 细胞分裂素和生长素及其有关物质与基因参与调控马尾松的分枝过程, 其中色胺、吲哚、反式玉米素等在狐尾型马尾松中上调表达, 双氢玉米素核苷等在多干型马尾松中呈上调趋势。该研究初步揭示马尾松产生分枝现象的差异激素和调控机制, 为激素调控马尾松的分枝提供参考。

关键词: 马尾松, 分枝, 转录组测序, 差异表达基因, 内源激素

中图分类号: Q943 **文献标识码:** A **文章编号:**

Analysis of endogenous hormones, metabolome and transcriptome in apical buds of *Pinus massoniana* with different branch types

LI Yifan^{1,2}, CHEN Xinhua², YANG Zhangqi^{2*}, FENG Yuanheng², ZHU Zhenjun³

(1. College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. Engineering Technology Research Center of *Pinus massoniana* of National Forestry and Grassland Administration, Engineering Technology Research Center of *Pinus massoniana* of Guangxi, Guangxi Key Laboratory of Superior Timber Trees Resource Cultivation, Guangxi Forestry Research Institute, Nanning 530002, China; 3. Guangxi National Qinlian Forest Farm, Qinzhou 547200, Guangxi, China)

Abstract: The improvement of traits including stem straightness, internode length, and branching is an important breeding objective for *Pinus massoniana* breeding, as branching directly affects stem form and timber yield. To systematically decipher the molecular and physiological mechanisms underlying the formation of distinct branching phenotypes in *Pinus massoniana*, this study integrated targeted hormone quantification, metabolomic profiling, and high-throughput

基金项目: 国家重点研发计划子课(2022YFD2200202-4); 广西科技基地和人才专项(AD19254004); 广西科技重大专项(桂科 AA24263021-1); 中央财政林业科技推广示范项目([2022]TG22号); 广西林业科技自筹项目(桂林科研[2022ZC]第90号); 广西林业科技推广示范项目(桂科[2022]第22号)。

第一作者: 李倚帆(1999—), 硕士研究生, 研究方向为植物遗传学, (E-mail)1773011718@qq.com。

***通信作者:** 杨章旗, 博士, 教授级高级工程师, 主要从事林木遗传育种研究, (E-mail) Yangzhangqi@163.com。

transcriptomic sequencing to analyze apical buds from three representative branching types: fox-tail type, multi-stem type, and normal type. The results showed that: (1) The contents of four key endogenous hormones—auxin (IAA), cytokinin (CTK), abscisic acid (ABA), and gibberellin (GA)—in the apical buds of the three branching types differed significantly, with accumulation levels following the order multi-stem type > normal type > fox-tail type. The ratios of IAA/ABA and IAA/CTK were highest in the fox-tail type and lowest in the multi-stem type. Hormone-related metabolites were predominantly enriched in pathways such as plant hormone signal transduction and zeatin biosynthesis, which are closely associated with the regulation of plant growth and branching development. (2) Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analysis of differentially expressed genes (DEGs) revealed that significant enrichment in pathways including zeatin biosynthesis, amino acid metabolism, and pentose and glucuronate interconversions. Further functional annotation and strict screening identified 35 DEGs specifically associated with the plant hormone signal transduction pathway, thereby highlighting the central role of transcriptional regulation in the formation of branching traits in *Pinus massoniana*. (3) Integrated analysis indicated that cytokinins, auxins, and their associated metabolites and corresponding regulatory genes play a regulatory role in the branching process of *Pinus massoniana*. Specifically, compounds such as tryptamine, indole, and trans-zeatin showed an upward trend in the fox-tail type, while dihydrozeatin ribonucleoside showed an increasing trend in the multi-stem type. This study preliminarily elucidates the differential hormonal and regulatory mechanisms underlying branching variation in *Pinus massoniana*, providing a reference for endogenous hormone mediated branching regulation in this species.

Key words: *Pinus massoniana*, branch, transcriptome analysis, metabolome, endogenous hormones

植物分枝生长受到顶端优势的调控,这也是决定植物形态的重要因素(王瑞勤等,1994;刘婷等,2022)。分枝的生长和数量主要由顶芽和侧芽决定,影响植株的光合作用和形态建成(Zhang et al.,2014)。在植物生长发育过程中,分枝受到遗传、生物、环境等多种因素的共同调控(Wang et al.,2018;Dong&Lin,2021),其中植物激素及其有关基因的调控协同发挥着主导作用。生长素(auxin,IAA)能间接诱导腋芽休眠(胡庆毅等,2022),并参与细胞伸长、分裂等植物过程(周玉滢等,2024)。高浓度生长素通过抑制细胞周期特异蛋白的合成,与细胞分裂素(cytokinin,CTK)协同参与顶端优势的调控(胡晓等,2017),细胞分裂素通过直接促进侧芽萌发调控分枝的数量;而降低赤霉素(gibberellins,GA)或增加脱落酸(abscisic acid,ABA)的含量均能促使腋芽萌发(张焱等,2008;Mauriat et al.,2011)。因此,植物激素的协同调控网络已经成为解析植物形态建成与植物分枝规律的主要研究方向之一。

马尾松(*Pinus massoniana*)作为我国特有的用材树种,由于其速生、适应性广、抗逆性强、用途广泛等特点,在造纸、建筑、松脂等林业产业中占据重要的地位(杨章旗,2022)。随着经济建设发展对林产品需求的持续增长,对马尾松的材性要求也逐渐提高(袁明等,2015):干形通直、轮枝间距长的马尾松是大径材培育的核心目标(杨章旗和舒文波,2012;杨章旗,2018);而特殊的多干马尾松,可通过增加主干数提高单位面积的产量(张嵩,2021),适合作为纸浆材的育种改良方向(杨章旗,1994;陈虎等,2020)。目前在林业生产中普遍通过人为修枝的方式调控树形,这一过程不仅费时长,还需要投入大量的成本。

马尾松分枝结构多呈塔型(袁明等,2015),但部分植株因多种因素的影响会产生不同类型,根据分枝表型可大致归为两类:一类是马尾松主干顶端优势丧失、基部分生多干,最

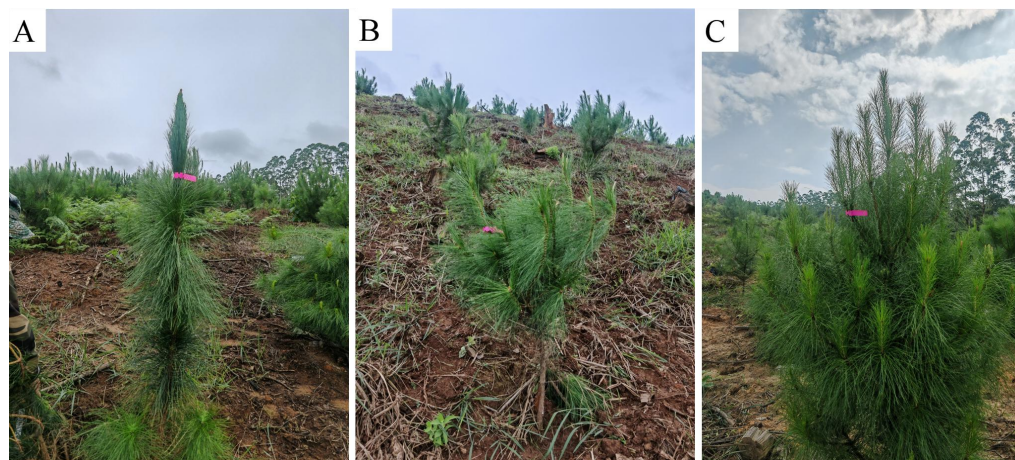
终形成具有多个独立主干共生的特殊结构，称为“多干型”马尾松。随着植株生长，各分干的形态性状逐渐与单干型趋于一致，林分蓄积因主干数量的增加而显著提升。多个分干形成共同的冠幅，相较于单干型植株，每个分干冠幅小、光合效率提升，其生长特性与纸浆材“短轮伐期、高产量”的培育目标高度契合（杨章旗，2022）。另一类则表现为强顶端优势抑制侧芽分化而形成无侧枝的通直主干，与密生针叶共同构成狐尾形态，称为“狐尾型”马尾松，其性状有利于培育大径级无节良材。Ledig & Whitmore（1981）研究认为狐尾型结构属于临界性状，其顶端优势的持续性存在显著个体差异。部分植株可能在多轮抽梢期均保持旺盛的顶端优势从而延续狐尾型结构，直至顶端优势减弱而诱发侧枝萌发。狐尾型植株的主干通直度较普通单干型有所提升，材性优良、节子较少，符合优质大径材“通直长干、少节子”的培育目标。通过解析顶端优势维持与侧芽萌发的平衡机制，可明确临界性状稳定性的调控阈值，为优质大径材选育提供表型指标与技术思路。

目前，马尾松的分枝调控研究主要通过截顶、修枝等传统方式进行实验（朱小坤等，2019；Chen et al., 2021；尚瑀琪等，2021），但受限于生长周期长、遗传分析困难等因素，针对马尾松顶端优势的激素调控机制研究仍较为少见。通过对两种分枝类型（多干型与狐尾型）的系统性研究，可深入探究马尾松分枝发育机制，进而为突破传统依赖人工修枝的局限性提供思路。因此，本研究以多干型、狐尾型马尾松及正常分枝的顶芽为材料，开展内源激素含量测定和比较分析代谢组、转录组测序，通过对比不同分枝的激素调控机制差异，筛选调控马尾松分枝表型的核心激素，为外源激素定向调控马尾松分枝表型、缩短育种周期的研究提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

实验材料来自广西国有派阳山林场国家马尾松良种基地 2022 年营造的马尾松子代测定试验林。于 2024 年春季，选择同一家系无病虫害的正常分枝马尾松（CK）、狐尾型马尾松（H）、多干型马尾松（M）为实验材料（图 1）。经前期连续生长观测发现，处于自然产生不同分枝且分枝长势一致的植株较少，因此随机选取每种类型的植株 3 株，采集其正处于萌发状态的健康顶芽（未出现明显木质化，芽体饱满且无损伤）。样品采集后并去除芽鳞片，立即放入液氮中保存，后储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。每个组合设置 3 个生物学重复，转录组测序、内源激素含量及代谢组测定由武汉迈特维尔代谢生物科技有限公司完成。



A. 狐尾型； B. 多干型； C. 正常分枝。

A. The fox-tail type ; B. The multi-stem type ; C. Normal type.

图 1 不同分枝类型的马尾松

Fig. 1 Different branching types of *Pinus massoniana*

1.2 形态测定

用测杆、测树钢围尺、游标卡尺和直尺测定树高、地径、主枝长、分枝数。

1.3 内源激素含量测定

检测植物激素含量和代谢物含量的差异。采用 LC-MS/MS 进行生长素 (IAA)、细胞分裂素 (CTK)、赤霉素 (GA)、脱落酸 (ABA) 及有关物质的测定, 并进行单因素方差分析和多因素统计分析 (Li et al., 2016)。依据标准品构建 MWDB 数据库进行定性分析, 利用三重四级杆质谱的多反应监测模式进行定量分析和类别鉴定。采用单变量统计分析和主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 等多变量统计分析结合, 得到不同分枝表型马尾松的顶芽间存在差异的代谢物, 设定筛选标准为: $FC \geq 2$ 或 ≤ 0.5 ; $P < 0.05$, $VIP > 1.0$, 挖掘各组别间的差异代谢物, 并进行差异代谢物的 KEGG 富集等分析 (Šimura et al., 2018)。

1.4 转录本组装及注释

提取各组总 RNA, 测定其完整度及纯度; 进行 cDNA 文库构建与质量检测, 构建成功的文库使用 Illumina 平台进行测序 (Chen et al., 2018)。原始测序数据 (raw reads) 用 fastp 过滤后, 得到高质量数据 (clean reads)。先经过 Trinity 对 clean reads 分别拼接和组装, 然后用 corset 软件聚类去冗余得到 Unigene 序列, 采用 Trinotate 软件进行功能注释。核酸序列经 transdecoder (Haas et al., 2013) 预测得到 CDS 和相应的氨基酸序列。使用 RSEM 计算转录本的表达量, 基因表达水平用 RPKM 表示。使用 DESeq2 进行差异表达分析 (阈值设定 $FDR < 0.05$, 且 $|\log_2(\text{foldchange})| > 1$) (Varet et al., 2016)。使用 R 语言软件包 topGO 和 clusterProfiler 对差异表达基因做 KEGG 功能富集分析, 以 $P < 0.05$ 为标准筛选显著富集的通路 (Huang et al., 2007)。

2 结果与分析

2.1 表型数据分析

由表 1 可知, 不同分枝类型马尾松的树高、主枝长、地径均值表现为 $H > CK > M$ 。狐尾型马尾松的树高和主枝长均与其他类型存在极显著差异 ($P < 0.01$), 地径显著高于其他两类; 多干型的树高、主枝长和地径为最低, 但侧枝数最多, 平均可达 7.8 个, 显著高于狐尾型 (1.5 个) 和正常分枝型 (5.0 个); 狐尾型的侧枝数与树高 (215.7 cm)、主枝长 (172 cm) 呈现相反趋势。由此可见, 马尾松侧枝数随着主干顶端优势的增强而减少。

表 1 不同分枝类型马尾松生长量差异

样品名 Sample name	树高 (cm) Height	主枝长 (cm) Main branch length	地径 (mm) Ground diameter	侧枝数 Number of lateral branches
CK	159.2±7.35B	75.1±19.5b	28.67±3.2b	5.0±0.9b
H	215.7±18.2A	172.5±27.5A	33.50±4.2a	1.5±1.5C
M	95.0±26.6C	37.7±5.3c	23.67±3.2c	7.8±1.7a

注: 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$), 不同小写字母表示不同样品间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

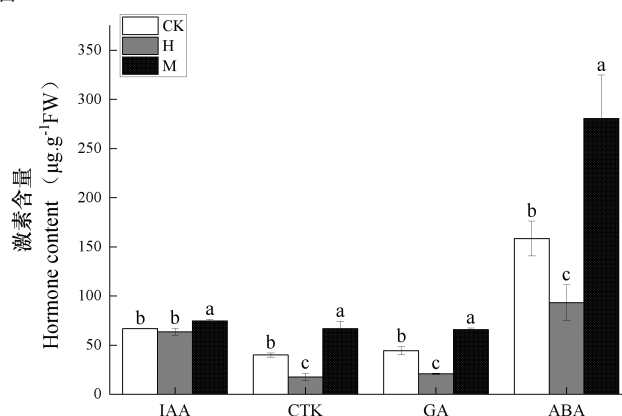
Note: Different uppercase letters indicate extremely significant differences between samples ($P < 0.01$), different lowercase letters indicate significant differences between samples ($P < 0.05$). The same below.

2.2 植物激素含量与分析

2.2.1 植物激素含量

不同分枝类型的马尾松顶芽中, IAA、CTK、GA、ABA 等激素含量分别存在显著差异。 (图 2), 均在多干型顶芽中含量最高, 在不同分枝类型顶芽中含量表现为多干型 > 正常分枝 > 狐尾型。不同分枝类型马尾松顶芽中 IAA/ABA 和 IAA/CTK 激素含量比值存在差异 (图 3), 发现激素含量比表现为狐尾型 > 正常分枝 > 多干型, 其趋势与单一植物激素

变化趋势相反。各分枝顶芽的激素比均存在显著差异，但多干型的 IAA/CTK 比值最低，与正常分枝差异不显著。



H. 狐尾型；M. 多干型；CK. 正常分枝。不同小写字母表示不同样品间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。
H. The fox-tail type ; M. The multi-stem type ; CK. Normal type. Different lowercase letters indicate significant differences between samples ($P < 0.05$). The same below.

图 2 不同比较组植物激素含量比较

Fig. 2 Comparisons of hormone content in different comparative groups

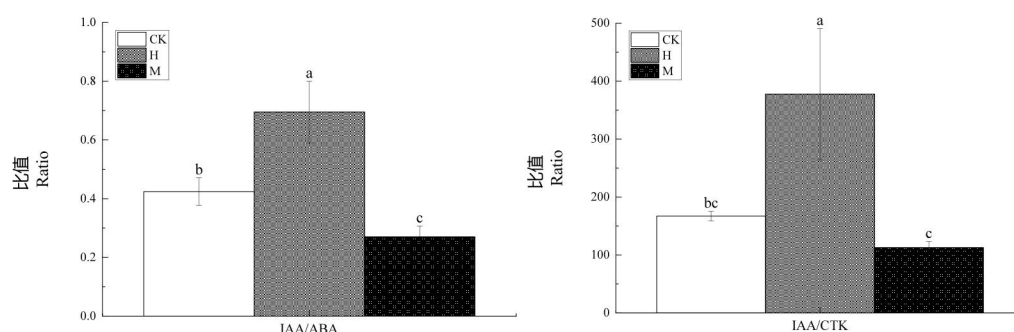


图 3 植物激素比例的差异

Fig. 3 Differences in plant hormone ratios

2.2.2 植物代谢物的鉴定与分析

本研究对样品中 9 大类共 109 种代谢物质进行分析，筛选各组间差异显著的差异代谢物（表 2）。结果发现，H 与 CK 间存在 19 个差异表达代谢物，其中 14 个差异代谢物上调，5 个下调；M 与 CK 之间存在 13 个差异表达代谢物，其中 11 个差异代谢物上调，2 个下调。H 与 M 差异表达代谢物最多，为 22 个，其中 11 个差异代谢物上调，11 个下调。

表 2 各组合差异代谢物统计

Table 2 Statistics of differential metabolites in each combination

分组 Group name	差异代谢物数目 number of differential accumulated metabolites	上调代谢物的数目 Down regulated	上调代谢物的数目 Up regulated
CK_vs_H	19	5	14
CK_vs_M	13	2	11
H_vs_M	22	11	11

2.2.3 植物激素代谢物的 KEGG 通路分析

KEGG 富集分析（图 4）表明，植物激素信号转导、玉米素生物合成、次生代谢物生物合成，以及二萜类生物合成等途径被共同显著富集。其中，植物激素信号转导通路主要负责

接收和传递激素信号，从而调控植物的生长发育，并不直接合成激素；而其他富集的代谢途径则与激素的合成直接相关，二萜类化合物是合成赤霉素（GA）的关键前体，而玉米素则是一种天然的细胞分裂素。此外，在 H_vs_CK 比较组中显著富集的色氨酸代谢途径，负责生成生长素（IAA）的合成前体。综上所述，马尾松顶芽对分枝的调控涉及多种植物激素的协同作用；GA 与 ABA 的合成与多干型、狐尾型马尾松的形成密切相关，而 IAA 参与调控狐尾型马尾松的顶芽生长和分枝过程。

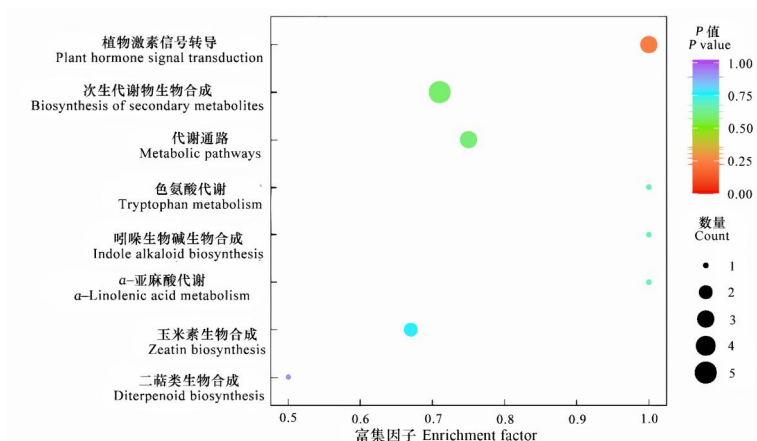


图 4 差异代谢产物的 KEGG 富集

Fig. 4 KEGG enrichment of differential accumulated metabolites

2.3 转录组测序结果与分析

2.3.1 转录组测序和数据组装

不同样品间 raw reads 分布范围为 4 256 ~ 6 554 万，过滤后获得不同样品 clean read 条数范围为 4 176 ~ 6 309 万，Q20 比率在 98.17 % 以上，Q30 比率高于 94.75%，GC 含量大于 44.16 %（表 3）。结果表明样品转录组测序质量较好，可继续进行后续分析验证。

表 3 样品测序质量

Table 3 Sample sequencing quality statistics

样品 Sample	原始数据 Raw Reads	过滤数据读段数量 Clean Reads	Q20(%)	Q30(%)	GC 含量 GC content(%)
CK1	54 691 796	53 514 632	98.24	94.99	44.16
CK2	52 352 814	50 953 864	98.26	95.13	44.47
CK3	57 118 868	55 959 376	98.25	95.05	44.60
H1	63 822 210	62 673 604	98.27	95.04	44.65
H2	52 276 424	51 628 368	98.21	94.92	44.83
H3	65 453 220	64 545 862	98.24	94.99	44.56
M1	56 287 284	54 998 426	98.29	95.13	44.67
M2	65 464 482	64 073 618	98.35	95.37	44.63
M3	42 562 012	41 765 636	98.18	94.84	44.62

2.3.2 差异表达基因筛选

将各处理两两组合，筛选不同分枝类型马尾松的差异表达基因（differentially expressed genes, DEGs）。如图 5 所示，H 与 CK 之间有 2 894 条 DEGs，其中 1 203 条 DEGs 上调，1 691 条下调；M 与 CK 之间存在差异表达基因数分别为 3 956 条，上调 DEGs 分别有 1 818，下调 DEGs 分别有 2 138。H 与 M 之间有 1 129 条 DEGs。其中，在 H_vs_CK 和 M_vs_CK 中均呈现差异表达的基因有 1 367 个（图 6）。

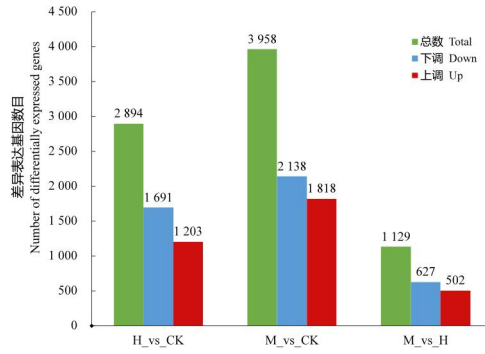


图 5 差异表达基因数目

Fig. 5 Number of differentially expressed genes

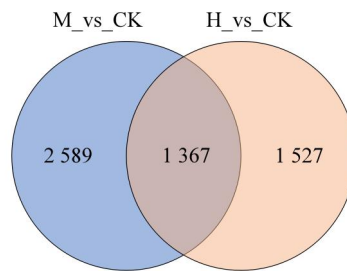


图 6 差异基因维恩图

Fig. 6 Differential gene Venn diagram

2.3.3 差异表达的基因功能注释

将 DEGs 进一步进行 KEGG 通路分析, 结果 (图 7) 发现, H 和 CK 被富集到戊糖和葡萄糖醛酸酯的相互转化、赖氨酸生物合成、肽聚糖生物合成等通路; M 和 CK 富集到 β -丙氨酸代谢、赖氨酸生物合成等; H 和 M 的 DEGs 富集到丁酸代谢、玉米素生物合成、精氨酸生物合成等。此外发现差异基因富集到部分与植物激素有关的通路, 如玉米素生物合成、植物激素信号转导等。结合分析, 推测马尾松差异表达基因可能通过玉米素生物合成、氨基酸代谢、糖代谢等有关显著富集通路参与调控顶芽生长发育。

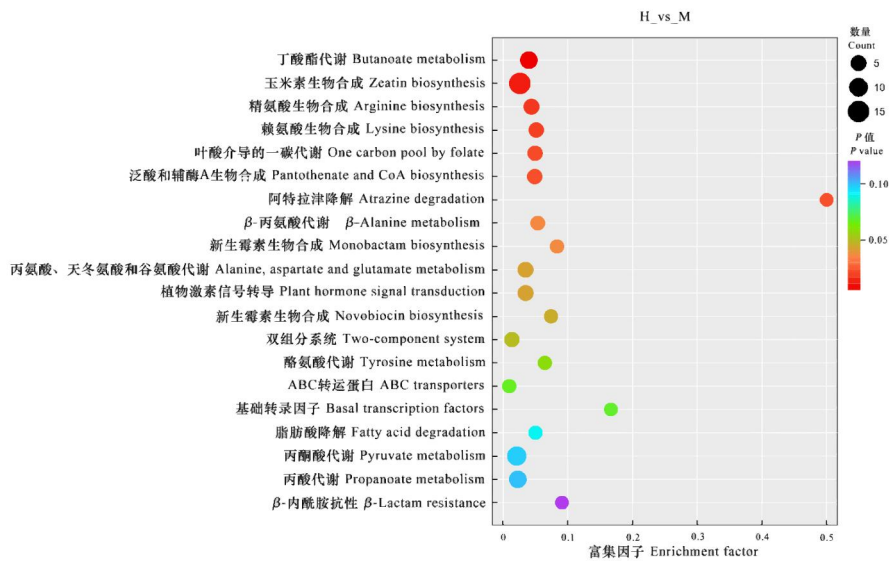
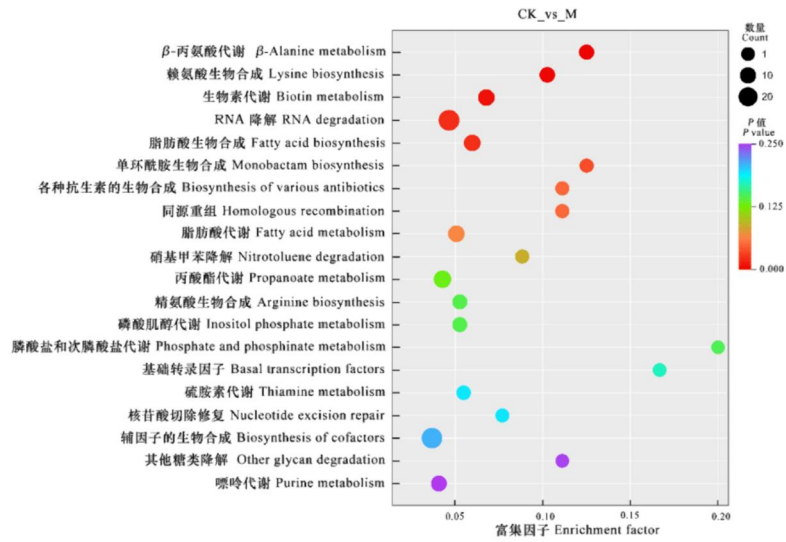
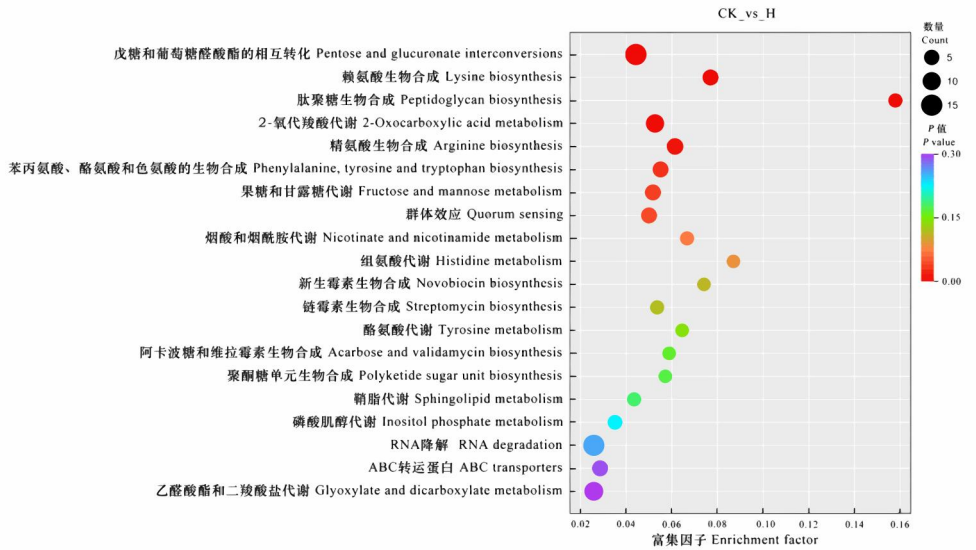


图 7 差异表达基因的 KEGG 富集分析
Fig. 7 KEGG enrichment analysis of DEGs

2.3.4 植物激素相关的差异表达基因

在生长素有关途径生长素输入载体 AUX1 (cluster-66375.0、cluster-66375.9、cluster-55644.5 等)、AUX/IAA (cluster-55644.0、cluster-47164.1、cluster-49625.9、cluster-50963.0) 等 DEGs 在 H 大体呈上调趋势 (图 8); 细胞分裂素信号转导途径的 2 个 DEGs 分别被注释为细胞分裂素受体 CRE1 (cluster-21588.2) 和磷酸转运蛋白 AHP (cluster-34584.2) 在 M 中上调; 赤霉素信号转导途径上的赤霉素受体 GID1 (cluster-34534.2)、核心负调控因子 DELLA (cluster-57822.1) 在 M 中上调, 在 H 表达下调; 脱落酸信号通路上负调控因子蛋白磷酸酶 PP2C 注释到 cluster-53519.7、cluster-65287.0、cluster-53519.6 等在 H 总体上调、反应元件结合因子 ABF (cluster-31604.2、cluster-59466.1、cluster-11026.1) 在 M 中总体上调。

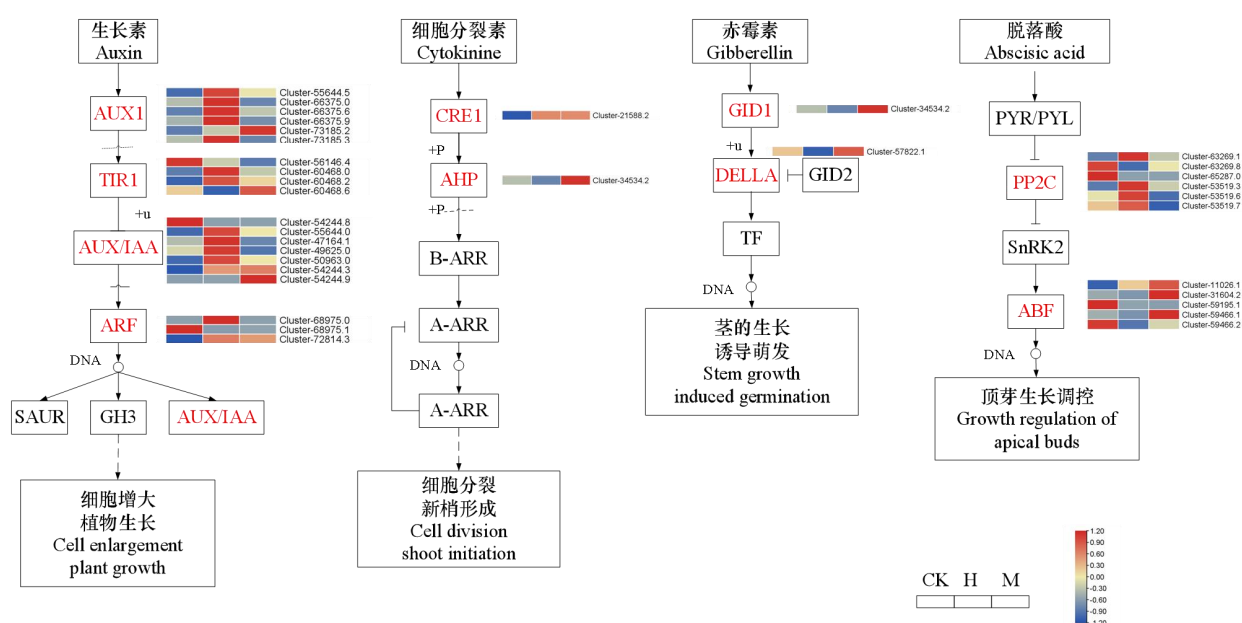


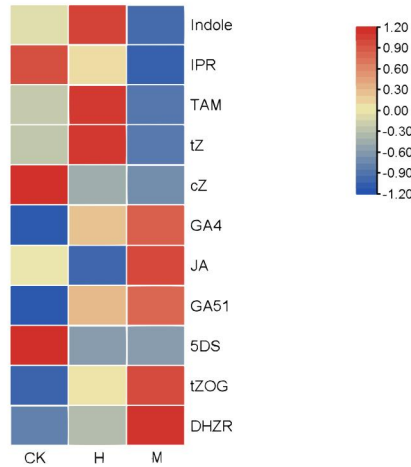
图 8 植物激素信号转导途径中差异表达基因分析

Fig. 8 Analysis of differentially expressed genes in Plant hormone signal transduction

2.4 植物激素代谢与转录组联合分析

为了揭示马尾松分枝表型的激素调控机制,通过组间差异基因与组间差异激素代谢物共有通路进行分析。H_vs_CK 的共注释通路为色氨酸代谢、代谢通路、次生代谢物生物合成; M_vs_CK 的共注释通路包括代谢通路、次生代谢物生物合成等; H_vs_M 的共注释通路为苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成、次生代谢物生物合成等。

联合分析结果显示,各组共同注释到的通路主要富集于 11 类激素物质 (图 9)。其中,在多干型顶芽中,细胞分裂素类物质反式-玉米素-9-B-葡萄糖苷 (*trans*-Zeatin-O-glucoside, tZOG) 和双氢玉米素核苷 (Dihydrozeatin ribonucleoside, DHZR), 以及赤霉素 4 (Gibberellin A 4, GA4)、赤霉素 51 (Gibberellin A51, GA51) 和茉莉酸 (Jasmonic acid, JA) 等物质的相对含量出现上调; 结合转录组分析, 赤霉素 GID1 (cluster-34534.2) 和 DELLA (cluster-57822.1) 的基因和细胞分裂素有关基因 CRE1 (cluster-21588.2)、AHP (cluster-34584.2) 的基因在 M 中上调表达 (图 8)。另外狐尾型顶芽中存在细胞分裂素衍生物反式玉米素 (*trans*-Zeatin, tZ) 及生长素有关的吲哚 (Indole)、色胺 (Tryptamine, TAM) 等显著上调, 与 IAA 有关的基因大部分在 H 中上调表达。



Indole. 吲哚; **IPR.** 异戊烯腺嘌呤核苷; **TAM.** 色胺; **tZ.** 反式玉米素; **cZ.** 顺式玉米素; **GA4.** 赤霉素 4; **JA.** 茉莉酸; **GA51.** 赤霉素 51; **5DS.** 5-脱氧独脚金醇; **tZOG.** 反式-玉米素-9-β-葡萄糖苷; **DHZR.** 双氢玉米素核苷。

Indole. Indole; **IPR.** N6-isopentenyladenosine; **TAM.** Tryptamine; **tZ.** *trans*-Zeatin; **cZ.** *cis*-Zeatin; **GA4.** Gibberellin A4; **JA.** Jasmonic acid; **GA51.** Gibberellin A51; **5DS.** 5-Deoxystrigol; **tZOG.** *trans*-Zeatin-O-glucoside; **DHZR.** Dihydrozeatin ribonucleoside.

图9 通路相关的差异代谢物

Fig.9 pathway-related differential expressed metabolites

3 讨论

植物分枝是受到多种因素参与调控的过程，植物激素在其中发挥着关键的作用（Mashiguchi et al., 2011）。不同分枝类型马尾松在幼年时期的抽梢长度及干形的显著差异区别相对明显，本研究以两年生“狐尾型”“多干型”马尾松与正常分枝马尾松抽梢顶芽为材料，通过分析分枝调控相关差异表达基因及内源激素的差异，初步解析了马尾松形成不同分枝形态可能的调控机制。

狐尾型、多干型与正常分枝马尾松在树高、地径和主枝长均值、侧枝数存在显著性差异。植物通过调节各部位生物量分配以适应生长所需的养分和能量，其表型特征可以作为本身的生长状态最直观的反应体现之一。旱柳（*Salix matsudana*）、东北岩高兰（*Empetrum nigrum* var. *japonicum*）等植物可通过不同分枝构型以适应多变的生存环境（何维明和董鸣，2001；安慧君等，2021）。其中植物激素的调控直接影响形态的建成。植物中 IAA/ABA 和 IAA/CTK 的比例是调控植物分枝模式的关键指标（Li & Bangerth, 1992；Wang et al., 1994）。小麦（*Triticum aestivum*）、玉米（*Zea mays*）的单株分蘖数与 IAA/CTK 呈负相关（王如芳等，2012；李春喜等，2000）。本研究的激素含量分析发现，多干型马尾松顶芽的 IAA/ABA 含量比例显著低于狐尾型马尾松顶芽，与多侧枝白皮松（*Pinus bungeana*）品种的 IAA/ABA 比值较低结论相似（蔡齐飞，2021）。此外，狐尾型顶芽的 IAA/CTK 比值最高且显著于其他两种分枝类型，激素含量比值的改变可能是马尾松分枝类型形成的原因。

顶端优势的形成与 IAA 有关。Auxin 在顶芽合成，通过极性运输到侧芽，使其生长受到抑制（Kebrom, 2017）。AUX/IAA 参与 Auxin 转运和信号传导（Luo et al., 2018）。AUX1 作为生长素的胞间转运蛋白，与生长素响应因子（auxin response factor, ARF）相互作用合成 Auxin（Yang et al., 2006），顶芽合成过量的 IAA 向下运输并在侧芽出积累，使其生长受到抑制，维持顶端优势（Mallorie et al., 2016）。在本研究中注释为 AUX1 的基因（cluster-66375.0、cluster-66375.9、cluster-55644.5 等）在狐尾型马尾松顶芽上调表达，而在

多干型顶芽中这些基因大多下调表达,推测狐尾型马尾松顶端优势的形成可能与 AUX1 介导的生长素胞间运输有关。AHP 家族基因参与 CTK 介导的磷酸转移信号传导通路,参与调节植物器官形成(Hejátko et al., 2009)。过表达 AHP2 的拟南芥植株表现为 CTK 高敏现象,从而抑制黄化幼苗的下胚轴伸长(Suzuki et al., 2006)。本研究中注释为 AHP 的 cluster-34534.2 在多干型顶芽中上调表达,暗示 AHP 基因通过细胞分裂素信号通路参与马尾松顶芽尖生长过程。

顶芽高 ABA 含量抑制植物生长(李顺福, 2023)。在 ABA 信号传导通路中, PP2C 被认为是负调控因子, PP2C 的抑制可增强 ABA 信号的转导, ABF 响应元件结合因子激活下游 ABA 响应基因的表达(Robert et al., 2006)。本研究中,多干型马尾松顶芽中注释为 PP2C 的基因(cluster-53519.7、cluster-65287.0、cluster-53519.6)下调表达,注释为 ABF 的基因(cluster-31604.2、cluster-59466.1、cluster-11026.1)上调表达,在狐尾型马尾松中表达不同;而且多干型马尾松顶芽的 ABA 激素含量显著高于其他分枝类型马尾松,推测 ABA 参与调节多干型的分枝发育,造成植株主干顶端抑制。

色胺合成途径中的 TAM 长期以来一直被认为是 IAA 合成的前体(Mano & Nemoto, 2012)。在烟草(*Nicotiana tabacum*)的顶端分生组织和愈伤组织,以及马铃薯(*Solanum tuberosum*)和大麦(*Hordeum vulgare*)的嫩枝中,同位素标记的 14C 色胺能够转化为 IAA(Quittenden et al., 2009)。本研究中狐尾型马尾松顶芽的生长素类物质(Indole、TAM)与 AUX1 基因的上调表达,推测狐尾性状的形成可能是顶芽中生长素类前体和相关基因的调控,为顶芽持续生长提供了充足的信号物质,以此维持强顶端优势。此外研究发现,与其他的细胞分裂素类衍生物不同,tZ 在狐尾型马尾松则表现为上调,推测 tZ 可能是植株不同分枝形成的重要原因之一。而细胞分裂素类衍生物(tZOG、DHZR)在多干型马尾松顶芽中上调;植株矮小、枝条密集等的植物普遍存在细胞分裂素含量显著升高。细胞分裂素在分蘖旺盛时期的狗牙根(*Cynodon dactylon*)、丛枝病的泡桐(*Paulownia*)植株中出现细胞分裂素的过表达(张海燕等, 2023; 李顺福, 2023)。在本研究细胞分裂素信号传导通路中, CRE1(cluster-21588.2)、AHP(cluster-34534.2)的基因上调表达。tZOG 和 DHZR 可进一步转化为活性细胞分裂素(CTK),参与分枝调控(Tomáš et al., 2016),而且多干型顶芽的 CTK 含量的显著增加,促使 CTK/IAA 比值升高,推测植株为应对主干顶端优势的减弱,增加 CTK 对于侧枝芽的正向调控作用,有利于促进基部芽的萌发,进而形成多干型分枝(Xiao et al., 2022)。

本研究初步探讨了狐尾型马尾松、多干型马尾松与正常分枝的马尾松顶芽的激素差异调控。通过激素与转录组联合分析发现马尾松顶芽受到细胞分裂素和生长素的协同影响,其中色胺、吲哚、反式玉米素等在狐尾型马尾松和多干型马尾松生长中起着关键作用。本研究初步揭示马尾松分枝形成的差异激素调控机制,为激素调控马尾松分枝的研究提供参考。

参考文献:

- AN H J, HOU X C, DE Y J, et al., 2021. Study on the characteristics of shoot germination and branch growth in *Empetrum nigrum* var. *japonicum*[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2021, 35(4): 146–153. [安慧君, 侯欣忱, 德永军, 等, 2021. 东北岩高兰枝芽萌发及分枝生长特性研究[J]. 干旱区资源与环境, 35(4): 146–153.]
- CAI Q F, 2021. Molecular mechanisms of the dwarf characteristic in *Pinus bungeana* Zucc. ex Endl[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry: 61–62. [蔡齐飞, 2021. 白皮松矮化性状变异的分子机制研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院: 61–62.]
- CHEN H, OU J, LI H X, et al., 2020. Blossom and cone setting of second-generation clonal orchard of dwarf *Pinus massoniana* L. [J]. Journal of West China Forestry Science, 49(1):9–15. [陈虎, 欧军, 李海星, 等, 2020. 矮化马尾松无性系二代种子园开花结实特征分析[J]. 西部林业科学, 49(1): 9–15.]
- CHEN H, TANG J H, LIANG X X, et al., 2021. Molecular mechanism of lateral bud

- differentiation of *Pinus massoniana* based on high-throughput sequencing[J]. Scientific Reports, 11(1): 9033.
- CHEN S, ZHOU Y, CHEN Y, et al., 2018. Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics, 34: i884–i890.
- DONG N Q, LIN H X, 2021. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant–environment interactions[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 63(1): 180–209.
- HAAS B J, PAPANICOLAOU A, YASSOUR M, et al., 2013. *De novo* transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. Nature Protocol[J]. 8(8): 1494–1512.
- HE W M, DONG M, 2001. Features of both water and architecture of *Salix matsudana* seedlings under various air temperature regimes[J]. Acta Ecologica Sinica, 21(7): 1084–1090. [何维明, 董鸣, 2001. 不同气温条件下旱柳(*Salix matsudana* Koidz)幼苗的水分和构型特征[J]. 生态学报, 21 (7) : 1084-1090.]
- HEJÁTKO J, RYU H, KIM GT, et al., 2009. The histidine kinases cytokinin-independent1 and arabidopsis histidine kinase2 and 3 regulate vascular tissue development in arabidopsis shoots[J]. Plant Cell, 21(7): 2008-2021.
- HU Q Y, CHEN B J, YANG L F, et al., 2022. Progress in phytohormones regulating apical meristem development[J]. Hunan Agricultural Sciences, (1): 105-110. [胡庆毅, 陈本佳, 杨立凡, 等, 2022. 植物激素调控顶端分生组织发育的研究进展[J]. 湖南农业科学 (1) : 105-110.]
- HU X, HOU X, YUAN X, et al., 2017. Research progress on mechanism of ARF and Aux/IAA regulating fruit development and ripening[J]. Biotechnology Bulletin, 33(12): 37-44. [胡晓, 侯旭, 袁雪, 等, 2017. ARF 和 Aux/IAA 调控果实发育成熟机制研究进展[J]. 生物技术通报, 33 (12) : 37-44.]
- HUANG D W, SHERMAN B T, TAN Q, et al., 2007. The DAVID gene functional classification tool: a novel biological module-centric algorithm to functionally analyze large gene lists[J]. Genome Biology, 8(9): R183.
- KEBROM T H, 2017. A growing stem inhibits bud outgrowth – The overlooked theory of apical dominance[J]. Frontiers in Plant Science, 8: 1874.
- LEDIG F T H, WHITMORE J L, 1981. Heritability and genetic correlations for volume, foxtails, and other characteristics of *Caribbean pine* in Puerto Rico[J]. Silvae Genetica, 30: 86-94.
- LI C J, BANGERTH F, 1992. The possible role of cytokinins, ethylene and indoleacetic acid in apical dominance [J]. Progress in Plant Growth Regulation, (13): 431-436.
- LI C X, ZHAO G C, DAI X M, et al., 2000. Research on the relationship between wheat tillering dynamics and endogenous hormone[J]. Acta Agronomica Sinica, (6): 963-968. [李春喜, 赵广才, 代西梅, 等, 2000. 小麦分蘖变化动态与内源激素关系的研究[J]. 作物学报, (6): 963-968.]
- LI S F, 2023. Studies on molecular mechanism of terminal bud death in *Paulownia*[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University: 64-66. [李顺福, 2023. 泡桐顶芽死亡分子机制研究[D]. 郑州:河南农业大学: 64-66.]
- LI Y, ZHOU C, YAN X, et al., 2016. Simultaneous analysis of ten phytohormones in *Sargassum horneri* by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 39(10): 1804-1813.
- LIU T, WANG T H, CHUN Y, et al., 2022. Research progresses on epigenetic regulation of plant

- branching/tillering[J]. Chinese Bulletin of Botany, 57 (4): 532 - 548.[刘婷, 王天浩, 淳雁, 等, 2022. 表观遗传调控植物分枝/分蘖研究进展[J]. 植物学报, 57 (4): 532-548.]
- LUO J, ZHOU J J, ZHANG J Z, et al., 2018. *Aux/IAA* gene family in plants: molecular structure, regulation, and function[J]. International Journal of Molecular Sciences, 19(1): 259-276.
- MALLORIE TT, AMY L, JENNIFER L N, 2016. As above, so below: Auxin's role in lateral organ development[J]. Developmental Biology, 419(1): 156-164.
- MANO Y, NEMOTO K, 2012. The pathway of auxin biosynthesis in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 63(8): 2853-2872.
- MASHIGUCHI K, TANAKA K, SAKAI T, et al., 2011. The main auxin biosynthesis pathway in Arabidopsis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 108(45): 18512-18517.
- MAURIAT M, SANDBERG LG, MORITZ T, 2011. Proper gibberellin localization in vascular tissue is required to control auxin-dependent leaf development and bud outgrowth in hybrid aspen[J]. The Plant Journal, 67(5): 805-816.
- QUITTENDEN L J, DAVIES N W, SMITH J A, et al., 2009. Auxin biosynthesis in pea: Characterization of the tryptamine pathway[J]. Plant Physiology, 151(3): 1130-1138.
- ROBERT N, MERLOT S, N'GUYEN V, et al., 2006. A hypermorphic mutation in the protein phosphatase 2C HAB1 strongly affects ABA signaling in Arabidopsis[J]. FEBS letters, 580(19): 4691-4696.
- SHANG Y Q, YANG M H, DUAN R M, et al., 2021. Optimization of micropropagation via organogenesis on elite families of *Pinus massoniana* Lamb[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 41(9): 1-13. [尚瑀琪, 杨模华, 段润梅, 等, 2021. 马尾松优良家系不定芽诱导及腋芽高效增殖组培体系构建与优化[J]. 中南林业科技大学学报, 41 (9): 1-13.]
- ŠIMURA J, ANTONIADI I, ŠIROKÁ J, et al., 2018. Plant hormonomics: multiple phytohormone profiling by targeted metabolomics[J]. Plant Physiology, 177(2): 476-489.
- SUZUKI T, ISHIKAWA K, YAMASHINO T, et al., 2002. An Arabidopsis histidine-containing phosphotransfer(HPt) factor implicated in phosphorelay signal transduction: overexpression of AHP2 in plants results in hypersensitiveness to cytokinin[J]. Plant and Cell Physiology, 43(1): 123-129.
- TOMÁŠ H, PETRE I. D, DANA T, et al., 2016. Cytokinin metabolism in maize: Novel evidence of cytokinin abundance, interconversions and formation of a new trans-zeatin metabolic product with a weak anticytokinin activity[J]. Plant Science, 247: 127-137.
- VARET H, BRILLET-GUÉGUEN L, COPPÉE J Y, et al., 2016. SARTools: A DESeq2- and EdgeR-based R pipeline for comprehensive differential analysis of RNA-Seq Data[J]. Public Library of Science ONE, 11(6): e0157022.
- WANG B, SWITH S M, LI J, 2018. Genetic regulation of shoot architecture[J]. Annual Review of Plant Biology, 69: 437-468.
- WANG R F, ZHANG J W, LU P, et al., 2012. Effects of endogenous hormones on tiller development process of different Maize varieties[J]. Scientia Agricultura Sinica, 45(5): 840-847. [王如芳, 张吉旺, 吕鹏, 等, 2012. 不同类型玉米品种分蘖发生过程中内源激素的作用[J]. 中国农业科学, 45 (5): 840-847.]
- WANG R Q, LI F L, TANG L T, 1994. Anatomical study of organ formation from the detached culture of *Pinus tabuliformis* needle bundles[J]. Journal of Beijing Forestry University, (4):

- 27-32. [王瑞勤, 李凤兰, 谭丽婷, 1994. 油松针叶束离体培养下器官建成的解剖学研究[J]. 北京林业大学学报, (4): 27-32.]
- XIAO F, ZHAO Y, WANG X R, et al., 2022. Targeted metabolic and transcriptomic analysis of *Pinus yunnanensis* var. *pygmaea* with loss of apical dominance[J]. *Molecular Biology*, 44(11): 5485-5497.
- YANG Y, HAMMES U Z, TAYLOR C G, et al., 2006. High-Affinity Auxin transport by the AUX1 influx carrier protein[J]. *Current Biology*, 16(11): 1123-1127.
- YANG Z Q, 1994. The genetic improvement process and future development of *P. massoniana* in Guangxi[J]. *Guangxi Forestry Science*, 23(1): 41-45. [杨章旗, 1994. 广西马尾松遗传改良进程及未来发展方向[J]. 广西林业科学, 23(1): 41-45.]
- YANG Z Q, 2022. Development situation and prospect of main timber forest industry in Guangxi[J]. *Guangxi Science*, 29(3): 405-410. [杨章旗, 2022. 广西主要用材林产业发展概况与展望[J]. 广西科学, 29(3): 405-410.]
- YANG Z Q, FENG Y H, TAN J H, et al., 2018. Advanced generation breeding strategy of *Pinus massoniana* in Guangxi[J]. *Guangxi Forestry Science*, 47(3): 251-256. [杨章旗, 冯源恒, 谭健晖, 等, 2018. 广西马尾松高世代育种策略研究[J]. 广西林业科学, 47(3): 251-256.]
- YANG Z Q, SHU W B, 2012. Breeding progress and strategies for pulpwood of *Pinus massoniana*[J]. *Guangxi Forestry Science*, 41(1): 27-32. [杨章旗, 舒文波, 2012. 马尾松纸浆材育种研究进展及策略[J]. 广西林业科学, 41(1): 27-32.]
- YUAN M, SONG H P, TANG L F, 2015. Discussion on the form and types for the branch of *Pinus massoniana*[J]. *Forestry Science and Technology Information*, 47(4): 26-28. [袁明, 宋红平, 唐丽英, 2015. 马尾松枝条的结构形式与类型初探[J]. 林业科技情报, 47(4): 26-28.]
- ZHANG H Y, SUN X, YU H, et al., 2023. Effects of gibberellin and cytokinin on the tillers bud morphology of *Cynodon dactylon*[J]. *Pratacultural Science*, 40(5): 1368-1377. [张海燕, 孙雪, 于辉, 等, 2023. 赤霉素和细胞分裂素对狗牙根分蘖芽形态结构的影响[J]. 草业科学, 40(5): 1368-1377.]
- ZHANG S, 2021. The internodes characteristics and its variation of lateral branches of *Pinus tabulaeformis*[J]. *Journal of Temperate Forestry Research*, 4(1): 39-44. [张嵩, 2021. 油松侧枝的节间特征及其变异规律[J]. 温带林业研究, 4(1): 39-44.]
- ZHANG Y, QI W W, WANG Y J, et al., 2008. Effect of abscisic acid on apical dominance in *Pharbitis nil* L.[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, (5): 728-730. [张焱, 祁巍巍, 王怡婧, 等, 2008. 脱落酸对日本牵牛顶端优势的影响[J]. 江苏农业学报, (5): 728-730.]
- ZHANG Z F, HUANG K, YE J, et al., 2014. Molecular characteristics analysis of wood extractives from *Pinus massoniana* trees[J]. *Polymers and Polymer Composites*, 22(8): 683-686.
- ZHOU Y Y, CHEN H, LIU S M, 2024. Research progress on Auxin responsive non-canonical Aux/IAA proteins in plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 59(4): 651-658. [周玉滢, 陈辉, 刘斯穆, 2024. 植物非典型 Aux/IAA 蛋白应答生长素研究进展[J]. 植物学报, 59(4): 651-658.]
- ZHU X K, WU F, SHI C S, et al., 2019. Morphologic and anatomic observations of *Pinus massoniana* after axillary bud dormancy release[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 47(5): 14-18. [朱小坤, 吴峰, 石长双, 等, 2019. 马尾松短枝腋芽休眠解除后形态与解剖学观察[J]. 东北林业大学学报, 47(5): 14-18.]