北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

毛白杨雄花芽发育关键时期的转录组分析

韩开元 王汗鑫 郑春元 周明珠 于振群 陈仲

Transcriptome analysis of key developmental stages of male floral buds in *Populus tomentosa*

Han Kaiyuan, Wang Hanxin, Zheng Chunyuan, Zhou Mingzhu, Yu Zhenqun, Chen Zhong

引用本文:
韩开元, 王汗鑫, 郑春元, 周明珠, 于振群, 陈仲. 毛白杨雄花芽发育关键时期的转录组分析[J]. 北京林业大学学报, 2026, 48(6):71–83. doi: 10.12171/j.1000–1522.20260246
Han Kaiyuan, Wang Hanxin, Zheng Chunyuan, Zhou Mingzhu, Yu Zhenqun, Chen Zhong. Transcriptome analysis of key developmental stages of male floral buds in *Populus tomentosa*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(6):71–83. doi: 10.12171/j.1000–1522.20260246

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20260246

您可能感兴趣的其他文章
Articles you may be interested in

毛白杨*PtYABBY*基因家族3个成员的克隆与表达分析
Cloning and expression analysis of three members of *PtYABBY*s in *Populus tomentosa*
北京林业大学学报, 2022, 44(1): 48–57. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210277

毛白杨碱性/中性转化酶基因*PtoNIN*1的克隆与功能研究
Cloning and functional study of the alkaline/neutral invertase gene *PtoNIN*1 in *Populus tomentosa*
北京林业大学学报, 2023, 45(5): 35–46. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20220171

不同花色木棉转录组功能注释与分析
Functional annotation and analysis of transcriptome of *Bombax ceiba* with different flower colors
北京林业大学学报, 2022, 44(3): 1–11. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210250

镉胁迫下美洲黑杨无性系‘中菏1号’转录组分析
Transcriptome analysis of clone *Populus deltoides* ‘Zhonghe 1’ under cadmium stress
北京林业大学学报, 2021, 43(7): 12–21. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210037

杨树响应胶孢炭疽菌侵染的转录组学研究
Transcriptome analysis of poplar leaves infected with *Colletotrichum gloeosporioides*
北京林业大学学报, 2024, 46(4): 91–102. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210481

低温诱导毛白杨花粉染色体加倍技术体系的优化
Technical systemic optimization of pollen chromosome doubling induced by low temperature in *Populus tomentosa*
北京林业大学学报, 2025, 47(9): 80–89. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250158

DOI:10.12171/j.1000−1522.20260246

毛白杨雄花芽发育关键时期的转录组分析

韩开元[1]　王汗鑫[1]　郑春元[1,2]　周明珠[1,3]　于振群[4]　陈　仲[1]

（1. 北京林业大学林学院，林木资源高效生产全国重点实验室，国家能源非粮生物质原料研发中心，省部共建森林培育与保护教育部重点实验室，北京 100083；2. 北京市十三陵林场管理处，北京 102299；3. 北京市密云区穆家峪镇人民政府，北京 101500；4. 山东省高唐县国有旧城林场，山东 高唐 252800）

摘要:【目的】解析毛白杨雄花芽从成花诱导到花粉成熟全过程的基因表达动态规律，筛选控制花发育进程的关键调控基因，以期为深入理解多年生木本植物花发育的分子机制提供理论依据，并为通过分子设计育种调控杨树开花时间和减少花粉致敏源问题提供候选基因资源。**【方法】**以毛白杨 8 个连续发育时期（MS1 ~ MS8）的雄花芽样本为材料，进行转录组测序。通过主成分分析评估样本重复性，筛选差异表达基因并统计转录因子家族。采用 Mfuzz 时序聚类划分表达趋势簇，并进行 GO 功能富集分析。选取关键簇中的转录因子进行启动子顺式作用元件预测。利用 WGCNA 构建共表达网络，筛选发育时期相关模块并进行 GO 富集分析。选取关键基因进行 RT-qPCR 验证，评估转录组数据准确性。**【结果】**（1）差异表达基因数量在发育阶段转换中呈现显著差异：从越冬休眠到花粉成熟启动（MS8 VS MS7）差异基因总数最多（上调 10 863 个，下调 10 890 个），表明休眠解除后大规模转录重编程可能是生殖发育快速推进的分子基础。（2）Mfuzz 时序聚类将所有表达基因划分为 10 个趋势簇，其中 Cluster 1 在成花诱导期高表达后持续下调，富集于细胞壁合成与细胞骨架构建；Cluster 4 在雄蕊原基形成期达峰值，参与核酸代谢与染色质重塑；Cluster 6 在孢原细胞形成期特异性高表达，主要富集于胁迫响应与激素响应功能条目；Cluster 8 在花粉成熟期高表达，显著富集花粉管生长与花粉萌发等生殖过程，揭示了不同发育阶段基因表达的时序性功能转换。（3）WGCNA 筛选出 3 个阶段特异性共表达模块（MEpink、MEmagenta、MEbrown），分别与早期细胞壁形成与苯丙烷代谢、休眠期囊泡运输与能量供应、花粉成熟期细胞骨架与细胞外基质建成密切相关，从网络层面印证了模块功能与发育进程的协同性。（4）启动子分析表明，Cluster 1 和 Cluster 8 中 16 个关键差异表达的转录因子启动子区广泛富集光响应及多种激素响应元件，暗示光信号与激素信号可能协同调控雄花芽发育。（5）RT-qPCR 验证了 6 个花发育相关基因（*PtoMYC*2、*PtoSEP*2、*PtoSEP*4、*PtoSOC*1、*PtoSVP*、*PtoTCP*9）的表达趋势，与 RNA-seq 结果高度一致（$r > 0.9$）；且不同 MADS-box 家族成员（*PtoSEP*2、*PtoSVP*、*PtoSEP*4、*PtoSOC*1）在雄花芽发育过程中呈现差异化的表达模式。**【结论】**毛白杨雄花芽发育中，休眠解除期基因表达变化最剧烈，休眠过渡期相对平稳，说明休眠解除是一个关键的转录重编程节点。本研究绘制了毛白杨雄花芽发育 8 个时期的动态转录图谱，揭示了基因表达的阶段性调控特征。这些结果为理解多年生木本植物花发育的阶段性调控提供了依据，也为分子育种调控杨树开花和减少花粉污染提供了候选基因。

关键词：毛白杨；雄花芽；发育时期；转录组；时序表达；WGCNA；基因表达

中图分类号：S792.11　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1000−1522(2026)06−0071−13

引文格式：韩开元，王汗鑫，郑春元，等. 毛白杨雄花芽发育关键时期的转录组分析［J］. 北京林业大学学报，2026，48(6)：71−83. Han Kaiyuan, Wang Hanxin, Zheng Chunyuan, et al. Transcriptome analysis of key developmental stages of male floral buds in *Populus tomentosa*［J］. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(6): 71−83.

Transcriptome analysis of key developmental stages of male floral buds in *Populus tomentosa*

Han Kaiyuan[1]　Wang Hanxin[1]　Zheng Chunyuan[1,2]　Zhou Mingzhu[1,3]
Yu Zhenqun[4]　Chen Zhong[1]

收稿日期：2026−05−19　**修回日期：**2026−06−08

基金项目：国家自然科学基金项目（31800555），中央高校基本科研业务费专项（PTJS202609），国家重点研发计划（2024YFD2201004）。

第一作者：韩开元，博士生。主要研究方向：林木花果发育。Email：kaiyuanhan@bjfu.edu.cn　地址：100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学林学院。

责任作者：陈仲，博士生导师，教授。主要研究方向：林木功能基因组学。Email：zhongchen@bjfu.edu.cn　地址：同上。

本刊网址：https://j.bjfu.edu.cn；https://journal.bjfu.edu.cn

(1. School of Forestry, State Key Laboratory for Efficient Production of Forest Resources, National Energy R&D Center for Non-Food Biomass, Key Laboratory of Silviculture and Conservation of the Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;
2. Ming Tombs Forest Farm Administration, Beijing 102299, China;
3. Mujiayu Town People's Government, Miyun District, Beijing 101500, China;
4. State-owned Old Urban Forest Farm of Gaotang County, Gaotang 252800, Shandong, China)

Abstract: [**Objective**] To reveal the genome-wide expression dynamics of male floral buds in *Populus tomentosa* from floral induction to pollen maturation, and to identify key regulatory genes controlling floral development, so as to provide a theoretical basis for understanding the molecular mechanisms of flower development in perennial woody plants and to offer candidate gene resources for molecular breeding aimed at regulating flowering time and reducing pollen allergens in *Populus*. [**Method**] Male floral bud samples at eight consecutive developmental stages (MS1–MS8) of *P. tomentosa* were subjected to transcriptome sequencing. Principal component analysis was used to assess sample reproducibility, differentially expressed genes (DEGs) were screened, and transcription factor families were statistically analyzed. Mfuzz time-series clustering was performed to classify expression trend clusters, followed by GO enrichment analysis. Promoter cis-element prediction was carried out for transcription factors selected from key clusters. WGCNA was applied to construct co-expression networks and to screen for developmental stage-related modules, which were then analyzed by GO enrichment. Select key genes for RT-qPCR validation to assess the accuracy of RNA-seq data. [**Result**] (1) The number of DEGs varied markedly across developmental transitions: the comparison between MS8 and MS7 (from overwintering dormancy to pollen maturation initiation) showed the largest number of DEGs (10 863 up-regulated, 10 890 down-regulated), suggesting that massive transcriptional reprogramming after dormancy release might be the molecular basis for rapid progression of reproductive development; whereas the comparison between MS4 and MS3 (from bud swelling to dormancy transition) showed the fewest DEGs (1 480 up-regulated, 3 178 down-regulated), indicating that this stage might be relatively quiescent. (2) Mfuzz time-series clustering divided all expressed genes into 10 trend clusters. Among them, Cluster 1 was highly expressed during floral induction and then continuously down-regulated, enriched in cell wall synthesis and cytoskeleton organization; cluster 4 peaked at stamen primordium formation, involved in nucleic acid metabolism and chromatin remodeling; cluster 6 showed specific high expression at the sporogenous cell formation stage, mainly enriched in stress response and hormone response-related terms; Cluster 8 was highly expressed at the pollen maturation stage, significantly enriched in reproductive processes such as pollen tube growth and pollen germination. This reveals the temporal functional transition of gene expression at different developmental stages. (3) WGCNA identified three stage-specific co-expression modules (MEpink, MEmagenta, MEbrown), which were closely associated with early cell wall formation and phenylpropanoid metabolism, vesicle transport and energy supply during dormancy, and cytoskeleton organization and extracellular matrix formation during pollen maturation, respectively, confirming at the network level the synergy between module functions and developmental progression. (4) Promoter analysis showed that the promoter regions of 16 key differentially expressed transcription factors from clusters 1 and 8 were extensively enriched in light-responsive and multiple hormone-responsive cis-elements, implying that light and hormone signals may coordinately regulate male floral bud development. (5) RT-qPCR validated the expression trends of six flower-development-related genes (*PtoMYC*2, *PtoSEP*2, *PtoSEP*4, *PtoSOC*1, *PtoSVP*, *PtoTCP*9), which were highly consistent with RNA-seq data ($r > 0.9$). Different MADS-box family members (*PtoSEP*2、*PtoSVP*、*PtoSEP*4、*PtoSOC*1) exhibited distinct expression patterns in male floral bud development. [**Conclusion**] During male floral bud development of *P. tomentosa*, gene expression changes most dramatically at the dormancy-release stage and is relatively stable during the dormancy-transition stage,

indicating that dormancy release is a critical node of transcriptional reprogramming. This study provides a comprehensive dynamic transcriptome atlas of male floral bud development across eight stages in *P. tomentosa*, revealing stage-specific regulatory characteristics of gene expression. These findings provide a basis for understanding the stage-specific regulation of flower development in perennial woody plants and offer candidate genes for molecular breeding to control flowering time and reduce pollen allergy in *Populus*.

Key words: *Populus tomentosa*; male floral bud; developmental stages; transcriptome; time-series expression; WGCNA; gene expression

杨树(*Populus* spp.)是我国重要的速生用材和园林绿化树种，在木材生产、生态修复、森林碳汇和城乡绿化中具有不可替代的地位，是我国主要的人工林树种之一[1−2]。然而，杨树大量开花产生的花粉及飞絮已成为城乡生态环境治理的突出问题，不仅影响城市空气质量，还引发呼吸道过敏等健康问题[3]。因此，深入研究杨树花发育的分子调控机制，对于培育少花、低致敏、不飞絮的杨树新品种，从源头解决花粉致敏和飞絮污染问题，具有重要的理论意义和应用价值。

杨树作为多年生木本植物，其开花启动与季节性生长停止、休眠解除等过程紧密耦联，相关分子调控机制研究已经取得了系列进展。早在 2005 年，Science 上首次报道了杨树中 *CO*/*FT* 调控模块同时控制开花时间和季节性生长停止[4]。Mohamed 等[5]利用杨树 *CEN*/*TFL*1 同源基因开展表达分析和转基因功能研究，发现通过 RNAi 干扰抑制其表达可显著缩短童期并促进早期开花，揭示 *CEN*/*TFL*1 在整合多年生发育年龄信号与季节性周期调控中发挥着核心作用。Sheng 等[6]利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术对同一 *CEN*1 基因进行靶向突变，发现在组培生根并分化出部分营养叶片后，*cen*1 单突变体即可产生腋生花器官，标志着其在营养生长的最早期阶段就已经完成了从营养生长向生殖生长的转变。在关键基因功能分化层面，Hsu 等[7]发现杨树 *FT*1 和 *FT*2 发生了功能分化，*FT*1 主要在休眠期和越冬后表达以调控春季开花，而 *FT*2 则在生长季节响应温暖长日照环境促进营养生长，二者共同协调了多年生杨树年生长周期中生殖与营养生长的转换。

花发育包括从花原基分化、花器官形成到配子体发育和成熟等多个连续阶段，依赖于一系列转录因子的精细调控。在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)中，花发育分子机制已有较系统的研究，经典的 ABCDE 模型阐明了花器官身份决定的遗传基础[8−9]。其中，MADS-box 转录因子家族是核心调控因子之一[10]。相比之下，杨树等多年生木本植物的花发育研究起步较晚。Brunner 等[11]从功能基因组学角度比较了杨树与拟南芥在成花诱导和花器官发育中的保守性与特异性，强调研究多年生木本植物特有发育调控机制的重要性。近年来，生长素、细胞分裂素和赤霉素等激素信号在花器官发育中的作用也取得重要进展[12−14]。在杨树中，*ARR*17 基因被鉴定为雌性发育的主控开关，它通过影响 B 类 *MADS-box* 基因(*PISTILLATA*，*APETALA*3)在雌花早期发育中的表达，直接阻断雄蕊的发育途径[15−16]。Müller 等[16]对杨柳科(Salicaceae)植物性别决定系统的演化研究发现，杨树与柳树的性别决定由同一基因座控制，但表现出从 XY 型向 ZW 型反复转换的复杂模式，为理解木本植物花器官性别分化的动态演化提供了分子证据。另外，利用热诱导 *FT* 过表达系统加速杨树开花，CRISPR 敲除 *LFY* 和 *AG* 同源基因后观察到花器官异常：敲除 *LFY* 导致花序变小且呈叶片状，敲除 *AG* 导致花器官胚性丧失[17]。Chen 等[18]分离鉴定了毛白杨花发育关键基因，构建了初步的共表达网络。Song 等[19]通过转录组、植物激素与 DNA 甲基化等联合分析，揭示了杨树雌雄花发育的差异表达特征，定位了第 19 号染色体性别决定区的 DNA 甲基化相关基因。此外，前人研究[20−21]表明，MADS-box 转录因子 AP3 以及花分生组织特征基因 *PtLFY* 等均在杨树花发育中呈现显著的时空表达差异。对毛白杨 YABBY 转录因子家族进行系统分离与表达分析发现，该家族是高等植物特有的转录因子家族，在侧生器官发育和开花过程中发挥重要作用[22]；表达模式分析结果[23]显示，*PtYABBY*3、*PtYABBY*4 和 *PtYABBY*11 在雌雄花芽 8 个发育时期中表达水平存在较大差异，表明 YABBY 家族可能参与杨树花芽发育和侧生器官形态建成的调控。Li 等[24]对毛白杨 MIKC 型 MADS-box 家族进行了全基因组鉴定，分析了该家族成员在花芽发育全过程中的动态表达谱。Marcon 等[25]则通过 WGCNA 鉴定出杨树中 36 个具有季节性表达特征的共表达模块，揭示了光周期和温度调控下关键基因网络在休眠解除、芽萌发等发育转换中的核心作用。

尽管上述研究为理解杨树花发育提供了重要基础，但仍存在一定不足：大部分研究聚焦于单个或少数基因家族的克隆和表达分析，或基于无参考基因组的 de novo 组装策略进行整体转录组分析，在基因注释的全面性和准确性、共表达模块的系统功能注释等方面仍有提升空间。与已有 de novo 转录组研究[18]不同，本研究采用参考基因组比对策略，以我国乡土树种毛白杨（*Populus tomentosa*）为研究对象，对其雄花芽 8 个连续发育时期开展深入的转录组时序分析。通过筛选各阶段差异表达基因和时序聚类发掘不同发育阶段基因的表达趋势，结合 WGCNA 构建阶段特异性共表达模块以挖掘核心转录调控因子，并对代表性转录因子进行启动子顺式元件预测，分析其潜在的调控元件。研究旨在系统揭示毛白杨雄花芽从成花诱导到花粉成熟的动态转录水平表达特征，筛选关键调控基因，为深入理解林木花发育机制，从分子层面防控杨树花粉过敏等现实问题，以及后续通过分子设计育种调控开花时间和花器官发育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

试验材料为山东省高唐县国有旧城林场的毛白杨雄株 8 个关键发育时期的雄花芽，本研究使用的毛白杨雄花芽样品于 2020—2021 年独立采集。根据雄花芽形态发育特征，连续采集 8 个关键发育时期的雄花芽。各时期划分依据参考课题组前期形态学观察结果[18]，第 1 时期为成花诱导期（MS1），第 2 时期为花原基形成期（MS2），第 3 时期为雄蕊原基分化期（MS3），第 4 时期为花芽膨大期（MS4），第 5 时期为孢原细胞形成期（MS5），第 6～7 时期为休眠期（MS6～MS7），第 8 时期为花粉成熟期（MS8）。每个时期分别从 3 株不同单株上采集雄花芽，混合后作为 1 个生物学重复，共设置 3 个生物学重复。样品采集后立即置于液氮中速冻，−80 ℃ 保存备用。

1.2 研究方法

1.2.1 RNA 提取与测序

8 个时期雄花芽的总 RNA 提取采用 TRIzol 试剂（Invitrogen，15596018CN，美国），样品在液氮中充分研磨后加入 TRIzol，按说明书步骤操作。提取过程中用 DNase I（TaKaRa，日本）去除残留基因组 DNA。RNA 的质量通过 1% 琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 2000 分光光度计检测，要求 OD_{260}/OD_{280} 在 1.9～2.1 之间，RIN 值 ≥ 7.0。合格 RNA 用于文库构建。使用 NEBNext Ultra RNA Library Prep Kit（NEB #E7775）构建转录组文库，经 Qubit 2.0 和 Agilent 2100 生物分析仪检测文库浓度和片段大小后，在 DNBSEQ-T7 平台进行双端 150 bp 测序。

1.2.2 数据过滤、比对及表达定量

为获得高质量基因表达量数据，原始下机数据（raw reads）中包含接头序列或低质量碱基，使用 fastp 软件进行过滤。过滤参数设置为去除含接头的 reads，去除质量值 $Q \leqslant 20$ 的碱基比例超过 20% 的 reads，去除长度小于 50 bp 的 reads。过滤后的 clean reads 用于后续比对。以毛白杨参考基因组[26]为参照，使用 HISAT2 软件（默认参数）将 clean reads 比对到基因组上。比对结果用 samtools 进行排序和索引。采用 featureCounts 软件统计每个基因上映射的 reads 数，获得基因原始计数（raw counts）矩阵，并计算每百万映射 reads 中每千碱基转录本的片段数（FPKM）作为基因表达量。

1.2.3 差异表达基因筛选与主成分分析

为评估生物学重复的可靠性及各发育时期样本间的整体表达差异，对所有样本的 FPKM 矩阵进行主成分分析，观察同一时期重复的聚类情况及不同时期的分离趋势。为鉴定各发育阶段转换过程中的关键基因，使用 R 语言 DESeq2 包（输入为 raw counts 矩阵）进行差异表达分析。对每个相邻发育时期组合（如 MS2 VS MS1 等），以 $|\log_2 FC| > 1$（FC 为差异倍数）且 FDR < 0.05 为阈值，筛选显著差异表达基因。将获得的差异表达基因列表用于后续功能富集和转录因子分析。

1.2.4 转录因子筛选与 GO 功能富集分析

为明确差异表达基因中转录因子的组成及其功能类别，从植物转录因子数据库 PlantTFDB 中下载毛果杨（*Populus trichocarpa*）转录因子家族注释信息[27]，并与差异基因列表取交集，获得差异表达的转录因子及其家族分布。为揭示差异基因参与的生物学过程，使用 TBtools 软件中的 Gene Ontology（GO）富集分析模块[28]，对差异基因进行功能注释。采用超几何检验计算每个 GO 条目的富集显著性，富集结果按生物学过程（BP）、细胞组分（CC）和分子功能（MF）3 大类分别整理。该分析主要用于识别各发育阶段转换时差异基因的主要功能倾向。

1.2.5 时序表达趋势聚类分析

为揭示基因表达随发育进程的动态变化，对 8 个时期所有基因的 FPKM 表达矩阵进行时序聚类。首先对每个基因在 8 个时期的表达值进行 *Z*-score 标准化，然后使用 Mfuzz 算法（隶属度阈值设为 0.5）进行软聚类。根据轮廓宽度结合生物学意义，将聚类数目设为 10。每个聚类内部的基因表达模式绘制成折线图，并分别进行 GO 富集分析，识别各表达趋

势所关联的生物学过程。该分析旨在将大量基因归纳为有限的趋势类型，便于后续聚焦关键表达模式。

1.2.6　启动子顺式作用元件预测

为探究关键表达趋势簇（Cluster 1 和 Cluster 8）中转录因子上游可能的环境和激素信号，从这两个簇中选取 16 个差异表达显著的转录因子（覆盖 MADS-box、bHLH、ERF、TCP、YABBY 等家族），用于启动子分析。从毛白杨基因组序列中提取各基因起始密码子 ATG 上游 2 000 bp 的序列作为启动子区域。将这些序列提交至 PlantCARE 数据库（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/）进行顺式作用元件预测。对预测结果进行统计，重点关注光响应、激素应答及非生物胁迫相关的元件，并记录其在启动子上的分布位置。

1.2.7　加权基因共表达网络分析

为从共表达网络层面识别与发育阶段相关的基因模块，使用 R 包 WGCNA 构建共表达网络[29]。首先通过函数 pickSoftThreshold 确定软阈值 β，使网络满足无标度拓扑模型。采用动态剪切树法初步划分模块，再将表达模式高度相似的模块合并。计算每个模块的特征向量，并与 8 个发育时期进行相关性分析。对于关键模块，使用 Cytoscape 软件（版本 3.9.1）构建共表达网络图[30]，节点大小代表基因的连接度，边代表共表达关系。同时对各关键模块进行 GO 富集分析，解释其生物学功能。该分析从全局网络角度补充验证了发育阶段特异性的调控模块。

1.2.8　实时荧光定量 PCR（RT-qPCR）验证

为验证转录组数据的可靠性，随机选取 6 个在转录组中差异表达显著且与花发育相关的基因，进行 RT-qPCR 验证。使用 PrimeScript™ RT reagent Kit（TaKaRa，日本）将总 RNA 反转录为 cDNA。qPCR 反应采用 SYBR Green 预混液（Bio-Rad），在 CFX96 实时定量 PCR 仪（Bio-Rad，美国）上进行。反应程序为 95 ℃ 预变性 3 min；95 ℃ 变性 10 s，60 ℃ 退火 30 s，72 ℃ 延伸 20 s，共 40 个循环；随后进行熔解曲线分析。以毛白杨 *Actin* 基因为内参[31]，每个样品设置 3 个技术重复。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。为评估转录组数据的可靠性，将各基因的 RNA-seq 表达量与 RT-qPCR 相对表达量进行 Pearson 相关性分析，计算相关系数（r）并检验显著性。为比较同一基因在 8 个发育时期间的表达差异，采用单因素方差分析（one-way ANOVA），显著性水平设为 $p < 0.05$。上述统计分析与图形绘制均在 GraphPad Prism 8.0 软件中完成（折线图均以平均值 ± 标准差表示）。

2　结果与分析

2.1　毛白杨雄花 8 个发育时期的差异表达基因筛选及功能富集分析

雄花芽发育 8 个时期完整涵盖了从成花诱导、原基分化、越冬休眠到减数分裂及花粉成熟的全过程。为进一步解析雄花发育的分子调控特征，对上述 8 个时期进行转录组测序。原始数据经质控过滤并与参考基因组比对后，共获得 1 054 352 276 条高质量 reads。采用 HISAT2（v2.0.1-beta）软件将各样品 Clean reads 比对至参考基因组，所有样本测序 reads 比对率介于 97.73% ~ 97.88%，整体比对效率优异；各样品绝大多数 reads 可实现唯一位置比对，双端完美匹配（paired）的 reads 占比对序列主体，说明测序数据质量可靠，可满足后续转录组定量与差异基因分析需求。主成分分析显示，同一时期的生物学重复样本聚类良好，表明数据重复性可靠（图 1）。

以 $|\log_2 FC| > 1$ 且 FDR < 0.05 为阈值，筛选不同发育阶段间的差异表达基因（DEG）。其中，MS4 与 MS3 比较，上调基因 1 480 个，下调基因 3 178 个，差异基因总数最少；MS8 与 MS7 比较，上调基因 10 863 个，下调基因 10 890 个，差异表达基因总数最多（图 2a）。转录因子是调控基因表达的关键因子，进一步对差异表达的转录因子家族进行分析。结果显示（图 2b），bHLH、ERF 和 MYB 等多个转录因子家族成员在雄花芽整个发育过程中均呈现差异表达，暗示其可能发挥重要调控作用。对 8 个发育阶段差异基因进行 GO 功能富集分析，发现其生物学功能呈现明显的阶段特异性。发育早期（MS1 ~ MS2）富集于细胞壁合成与细胞骨架构建，驱动形态建成；中期（MS3 ~ MS5）细胞周期与减数分裂相关功能持续

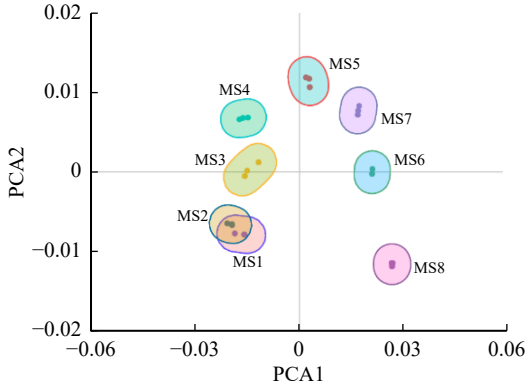
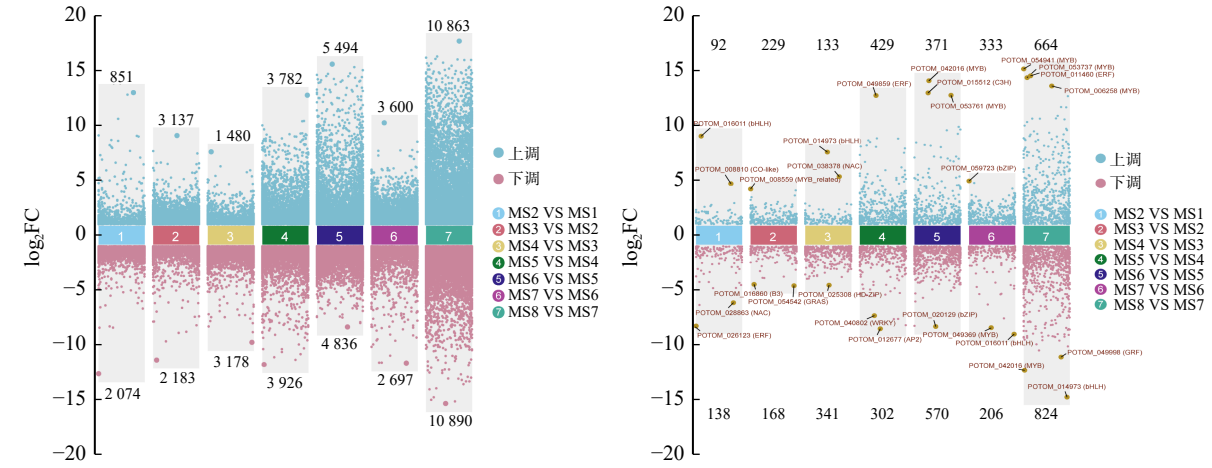


图 1　8 个发育时期毛白杨雄花芽转录组测序样本的主成分分析

Fig. 1　Principal component analysis of transcriptome sequencing samples of *P. tomentosa* male floral buds at eight developmental stages



a 全部差异表达基因　　b 差异表达的转录因子

FC 为差异倍数

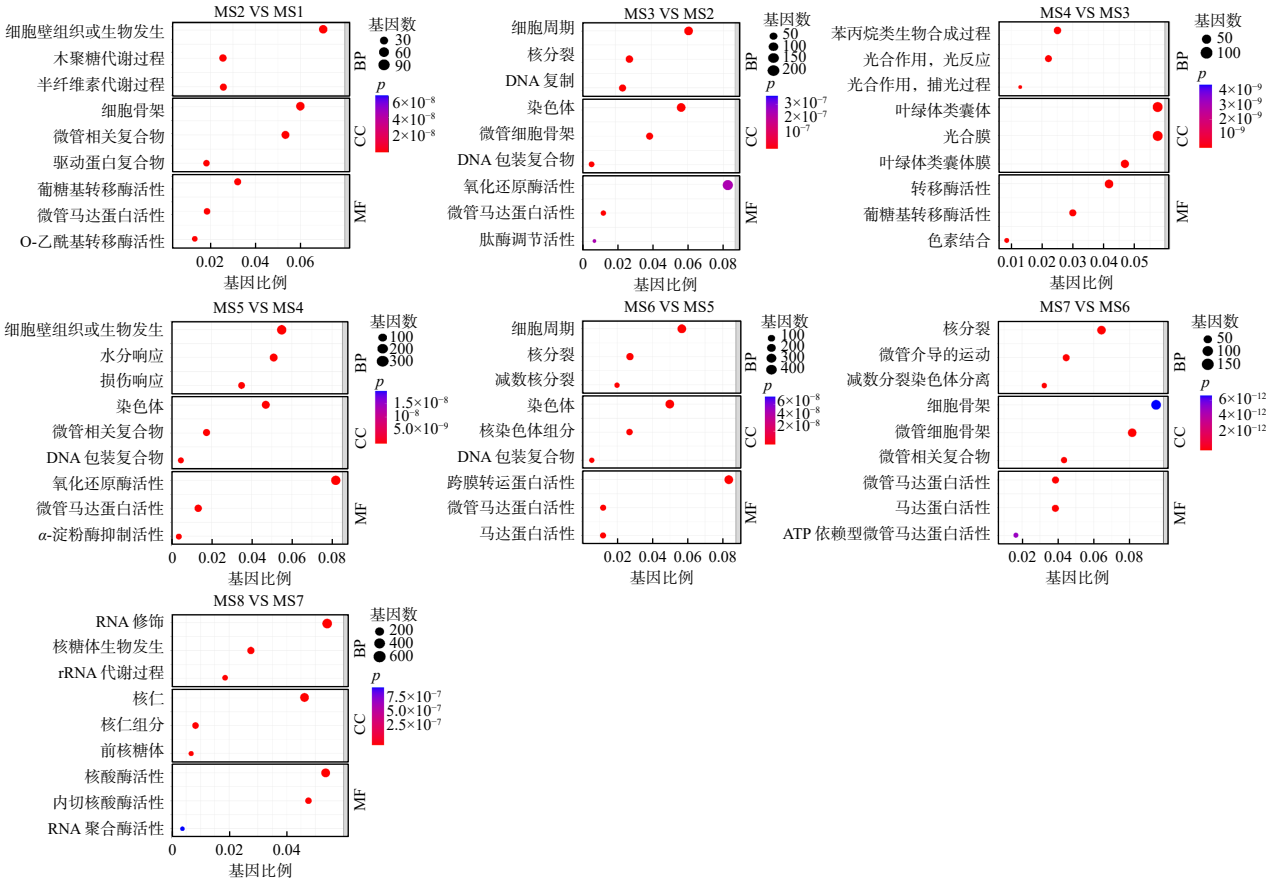
图 2　毛白杨雄花芽 8 个发育时期差异表达基因的散点图

Fig. 2　Scatter plots of differentially expressed genes in eight developmental stages of *P. tomentosa* male floral buds

高度富集，主导雄配子发生；MS4 阶段特异性激活苯丙烷代谢与光合作用，为生殖分化提供物质与能量支持；发育晚期(MS8)则富集 RNA 修饰与核糖体合成相关功能，参与花粉成熟调控(图 3)。上述结果表明，毛白杨雄花芽发育过程中伴随着核心功能模块的时序性动态变化。

2.2　8 个时期基因表达的时序趋势聚类及功能富集特征

为进一步揭示雄花芽发育过程中基因表达的动态变化模式，将所有表达基因划分为 10 个具有阶段特异性的表达模式聚类(图 4)。各聚类呈现不同的表达趋势：Cluster 1 在成花诱导期(MS1)高表达后持



BP 代表生物学过程，CC 代表细胞组分，MF 代表分子功能。

图 3　毛白杨雄花芽 8 个连续发育时期差异表达基因的 GO 功能富集分析

Fig. 3　GO functional enrichment analysis of differentially expressed genes across eight continuous developmental stages of *P. tomentosa* male floral buds

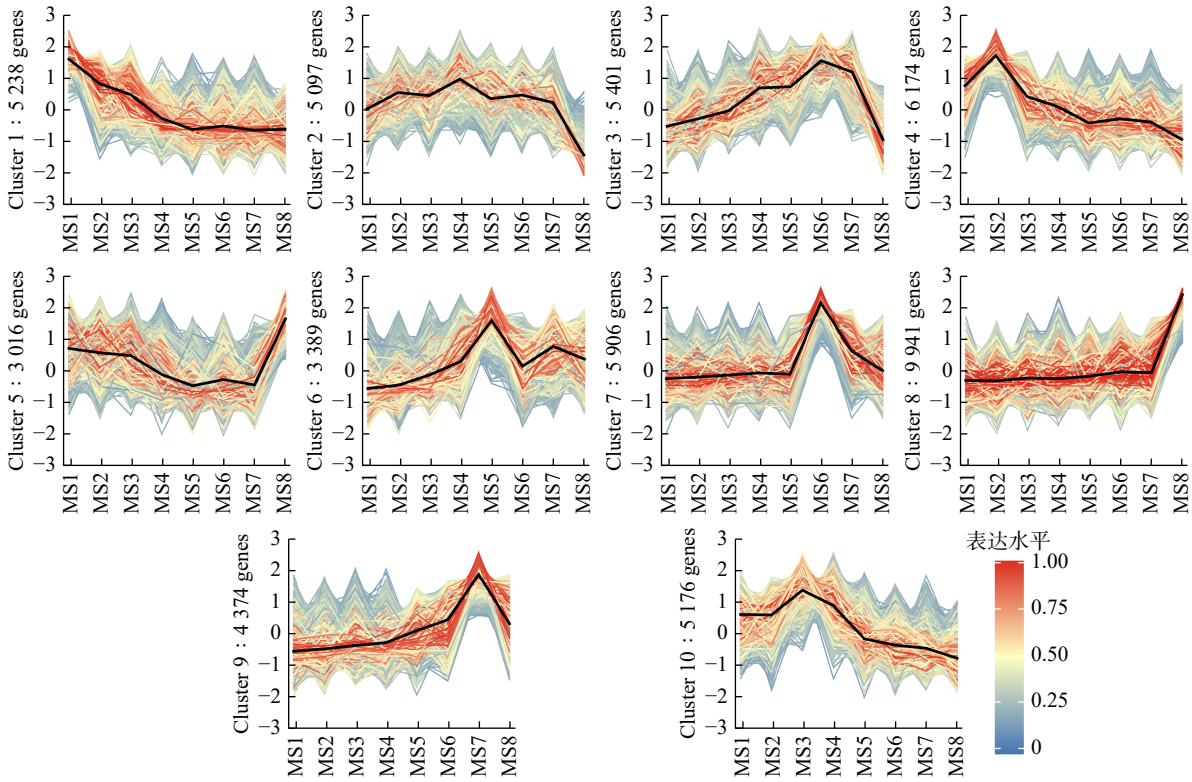


图 4　毛白杨雄花芽 8 个连续发育时期基因表达趋势的 Mfuzz 聚类分析

Fig. 4　Mfuzz clustering analysis of gene expression trends across eight continuous developmental stages of *P. tomentosa* male floral buds

续下降，Cluster 4 在雄蕊原基分化期（MS2 ~ MS3）达到峰值，Cluster 8 在花粉成熟期（MS8）显著上升。这些差异化的表达趋势反映了不同聚类在特定发育阶段具有表达上的“阶段特异性”，即该聚类基因的表达高峰与某一发育时期相对应。

为进一步明确各表达聚类的生物学功能，根据各聚类表达趋势与发育阶段的相关性及其代表性，选取 Cluster 1、4、6、8 进行 GO 富集分析（图 5）。这 4 个聚类分别对应雄花芽发育的核心阶段：Cluster 1（5 238 个基因）在花诱导期（MS1）高表达并持续下调，富集于细胞壁组织与生物合成、细胞骨架构建等过程，驱动花器官原基启动与早期形态建成；Cluster 4（6 174 个基因）在雄蕊原基形成期（MS2 ~ MS3）达到表达峰值，显著富集核酸代谢、RNA 修饰及染色质重塑等过程，为雄蕊原基形成与小孢子母细胞发育提供转录调控基础；Cluster 6（3 389 个基因）在孢原细胞形成期（MS5）特异性高表达，主要参与非生物胁迫响应、激素信号转导及转录调控，协同环境信号与内源激素，为启动越冬休眠奠定调控基础；Cluster 8（9 941 个基因）在花粉成熟期（MS8）特异性高表达，显著富集花粉管生长、花粉萌发及授粉等生殖过程，同时涉及离子转运、pH 稳态调控及细胞极性生长，表明开花前基因表达的变化主要集中于完成花粉萌发和授粉等最终生殖环节。这些结果表明，毛白杨雄花芽发育过程中基因表达呈现阶段性动态变化，并形成了各时期特异的调控特点及关键功能模块。

2.3　关键表达趋势中转录因子启动子顺式作用元件分析

Cluster 1 和 Cluster 8 分别代表了雄花芽发育的早期启动阶段和后期生殖执行阶段，从这两个聚类中选取 16 个差异表达显著的转录因子（覆盖 MADS-box、bHLH、ERF、TCP、YABBY 等主要家族）。不同转录因子在 8 个发育时期的表达模式差异明显：部分转录因子在成花诱导期（MS1）高表达后逐渐下降，如 PtoSVP、PtoSOC1 和 PtoMYC2 转录因子；另一些则在花粉成熟期（MS8）特异性上升，如 PtoSEP4 和 PtoAP1 转录因子（图 6）。

进一步对上述转录因子的启动子区进行顺式作用元件预测。结果（图 6）表明，所有选取的转录因子启动子区均广泛富集光响应相关元件。这表明无论是发育早期的成花诱导还是晚期的花粉萌发，雄花芽发育均与光照环境密切相关，光信号可能通过调控这些转录因子的表达参与各阶段的精确启动。在激素响应方面，启动子区富集了多种植物激素响应元件，包括赤霉素（GA）响应元件、茉莉酸甲酯（MeJA）响应元件、脱落酸（ABA）响应元件、水杨酸（SA）响应元件以及生长素响应元件。这表明雄花芽

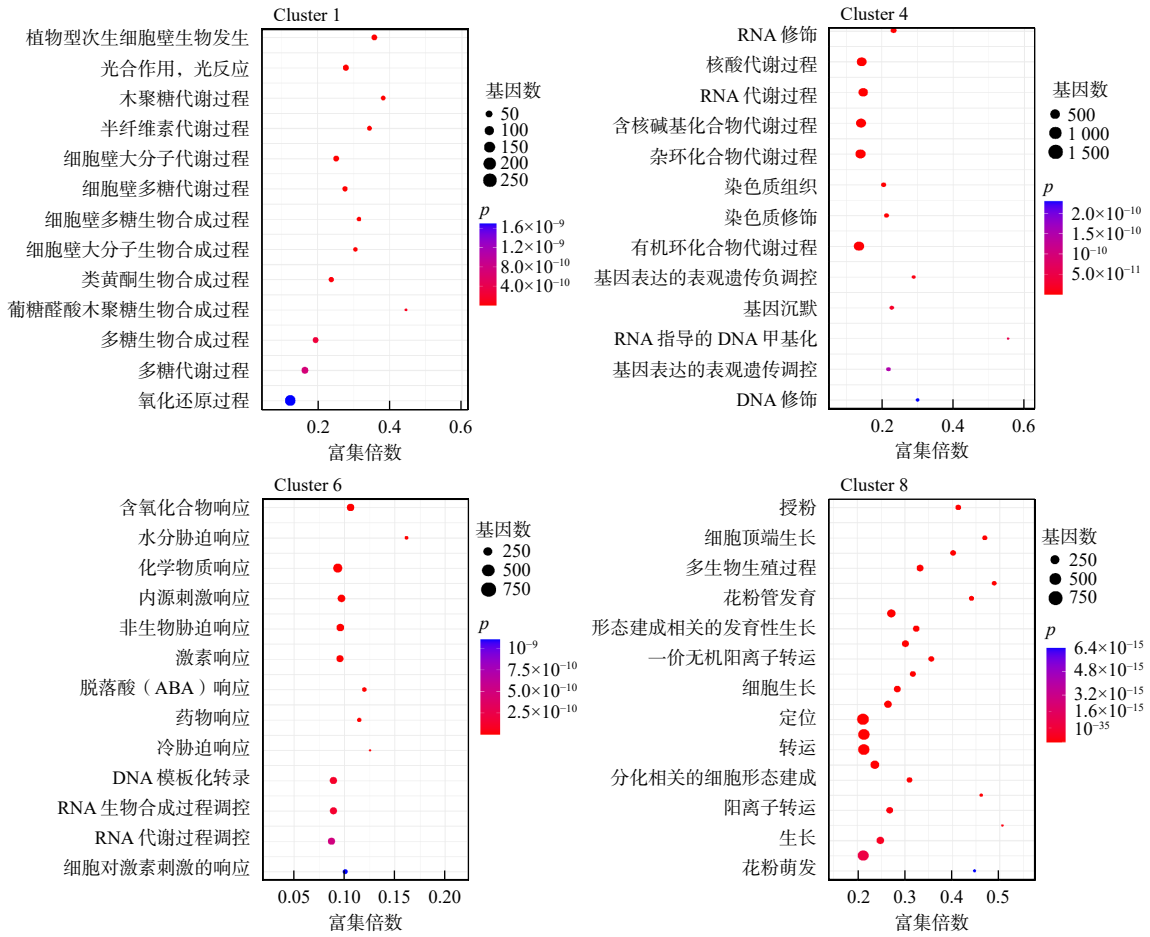


图 5 毛白杨雄花芽发育关键基因表达聚类的 GO 生物学过程富集分析

Fig. 5 GO biological process enrichment analysis of key gene expression clusters during male floral bud development in *P. tomentosa*

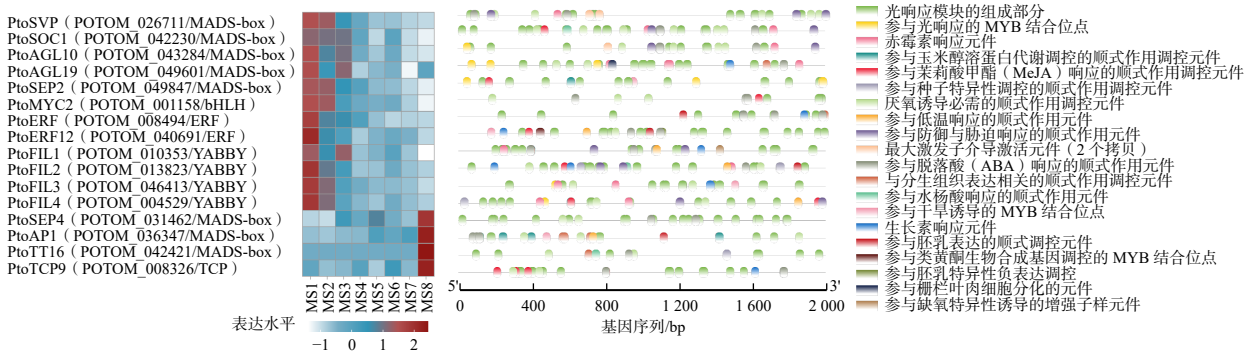


图 6 关键转录因子的表达模式及其启动子顺式作用元件分析

Fig. 6 Expression patterns of key transcription factors and analysis of cis-acting elements in their promoter regions

发育过程中可能涉及多种激素信号的协同配合。此外，启动子区还富集了多个与非生物胁迫相关的顺式作用元件，包括低温响应元件以及干旱诱导 MYB 结合位点，由于毛白杨雄花芽需经历越冬休眠阶段，低温与干旱响应元件的富集可能与休眠维持及逆境适应性密切相关。

2.4 加权基因共表达网络分析（WGCNA）及共表达网络构建

为筛选与毛白杨雄花芽不同发育阶段相关的基因共表达模块，采用 WGCNA 方法对 8 个时期所有表达基因进行分析，并计算各模块与每个发育时期的相关系数。以|cor| > 0.6 为筛选标准，共获得 3 个与发育时期显著相关的模块。其中，MEpink 与 MS1 的相关系数为 0.616，MEmagenta 与 MS6 的相关系数为 0.669，MEbrown 与 MS8 的相关系数为 0.92，这 3 个模块的相关性最强且功能富集具有代表性，因此被选为关键模块（图 7a）。为进一步揭示上述 3 个模块的生物学功能，分别对其包含的基因

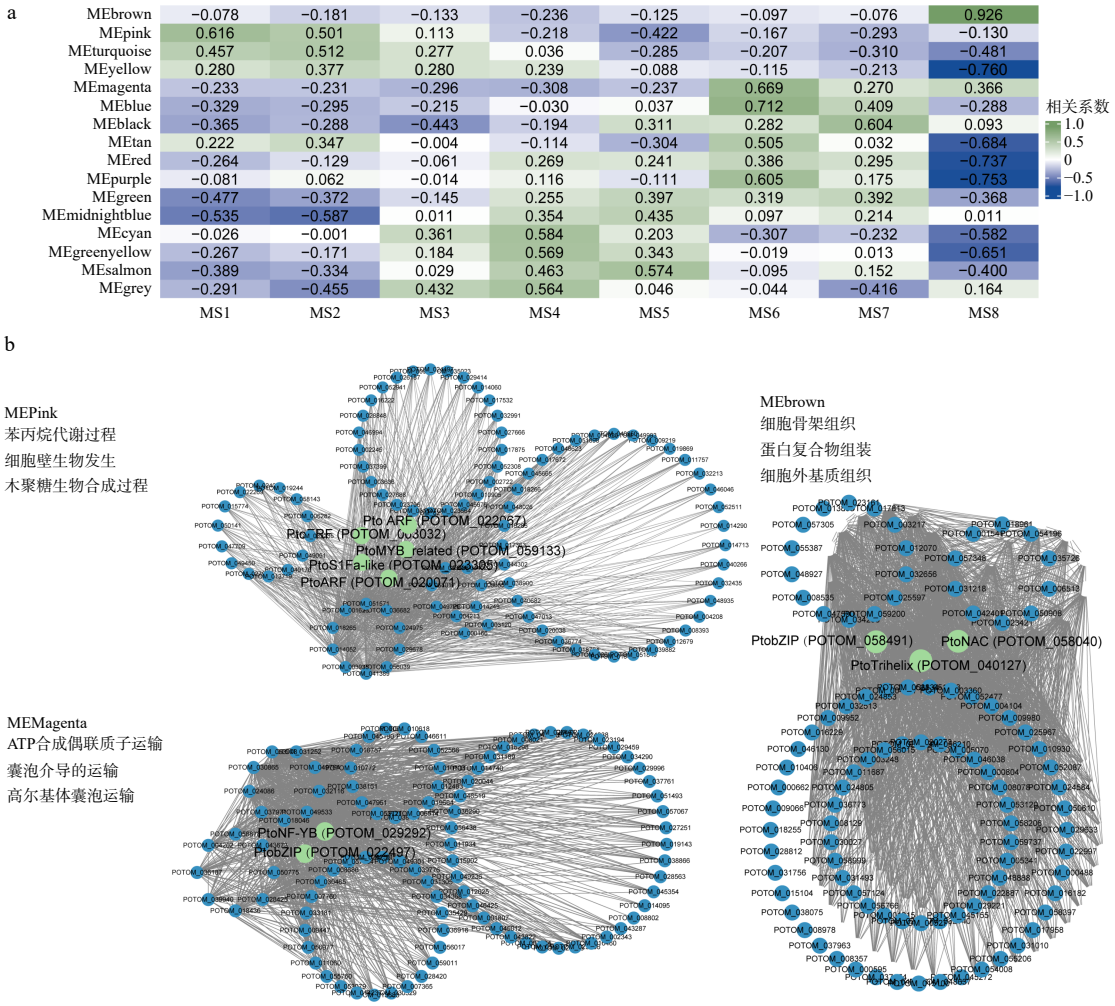


图 7　毛白杨雄花芽发育基因共表达网络（WGCNA）分析

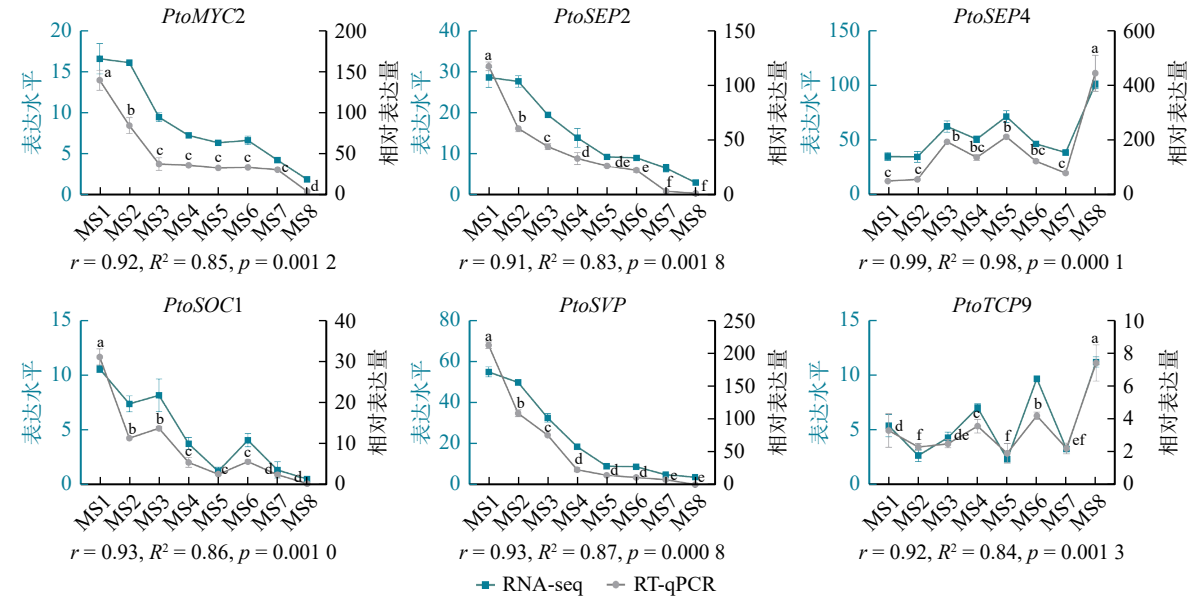
Fig. 7　Weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) of *P. tomentosa* male floral bud development

进行 GO 富集分析，并构建共表达网络（图 7b）。根据权重值筛选核心节点基因，MEpink 模块与 MS1、MS2 呈显著正相关。该模块的 GO 富集分析显示，其基因主要参与细胞壁生物发生、木聚糖生物合成及苯丙烷代谢过程。这些功能与早期花芽分化和形态建成中细胞分裂、细胞壁重塑及木质素前体合成等需求一致。MEmagenta 模块与 MS6 高度相关。该模块显著富集囊泡介导的运输、高尔基体囊泡运输以及 ATP 合成偶联质子运输等条目。囊泡运输和能量代谢相关功能条目的富集，表明休眠期细胞并未完全静止，仍需维持物质转运和基础能量供应。MEbrown 模块与 MS8 显著相关。该模块的 GO 条目主要包括细胞骨架组织、蛋白复合物组装以及细胞外基质组织。这些功能与减数分裂过程中纺锤体形成、花粉壁构建及细胞形态维持等生物学事件密切相关。

2.5　RT-qPCR 验证雄花芽发育过程中关键基因的表达趋势

基于前期的差异表达分析、时序聚类及 WGCNA 模块鉴定结果，从 Cluster 1、4、6、8 及关键共表达模块（MEpink、MEbrown）中选取了 6 个在雄花芽发育过程中差异表达显著且具有代表性的基因（*PtoMYC*2、*PtoSEP*2、*PtoSEP*4、*PtoSOC*1、*PtoSVP*、*PtoTCP*9），采用 RT-qPCR 检测其在 8 个发育时期（MS1 ~ MS8）的表达水平。结果（图 8）表明，各基因的 RT-qPCR 表达趋势与 RNA-seq 测序结果高度一致，两者间的 Pearson 相关系数均大于 0.9，证实了转录组测序获得的基因表达量数据的准确性和可靠性。

进一步分析各基因的表达动态发现，不同 MADS-box 家族成员呈现差异化的表达模式。*PtoSEP*2 和 *PtoSVP* 在整个发育进程中表达水平逐渐降低，从花诱导期的高表达持续下降至花粉成熟期的低表达，提示这两个基因可能主要参与花发育早期阶段的调控。相反，*PtoSEP*4 的表达水平随发育进程逐渐升高，在花粉成熟期（MS8）达到峰值，暗示其可能在花粉成熟中发挥正向调控作用。*PtoSOC*1 虽整体呈下降趋势，但在 MS3（雄蕊原基分化期）和



不同小写字母表示不同时期的相对表达量在 0.05 水平上差异显著。

图 8 毛白杨雄花芽发育过程中关键基因的 RT-qPCR 验证

Fig. 8 RT-qPCR validation of key genes during male floral bud development in *P. tomentosa*

MS6(休眠期)出现两次小幅上调，这可能与 *SOC*1 在花发育中兼具促进开花和响应环境信号的多重功能有关。上述结果从转录水平进一步印证了毛白杨雄花芽发育过程中基因表达的阶段性动态特征。

3 讨 论

毛白杨是我国特有的乡土树种，在木材生产和生态防护中具有重要地位。然而，其大量开花产生的花粉及飞絮已成为城乡生态环境治理的突出问题，深入研究花发育的分子调控机制，对于培育少花、无粉的新品种具有重要的理论和应用价值。与一年生草本植物相比，多年生木本植物的花发育具有生殖周期长、需经历越冬休眠等独特特征，其调控网络可能更为复杂。尽管前期已有研究通过 de novo 组装策略对毛白杨雄花芽 8 个发育时期进行了转录组分析[18]，但在基因注释的全面性和准确性方面仍有提升空间。本研究采用参考基因组比对策略，对独立采集的样品进行转录组时序分析，以期系统揭示毛白杨雄花芽从成花诱导到花粉成熟的基因表达动态特征，为林木花发育研究和分子育种提供数据支撑。

转录组数据显示，MS8 与 MS7 比较阶段差异基因数量激增(上调 10 863 个，下调 10 890 个)，而 MS4 与 MS3 阶段差异基因数量最少(上调 1 480 个，下调 3 178 个)。MS4 处于花芽膨大与小孢子母细胞进入休眠前的过渡期，表达相对平稳。MS8 时期，花芽打破越冬休眠，启动减数分裂并快速发育成熟为花粉，该阶段发生了剧烈的转录重编程，大量基因在休眠解除后被激活。类似地，杨树全年转录图谱显示春季萌发期发生最显著的转录重编程[25, 32]，顶芽的高分辨率时间转录谱也将休眠解除阶段划分为特定调控模块[33]。在营养芽休眠转变中同样观察到大量基因表达重塑，暗示休眠—解除过程在营养芽和花芽中可能存在部分保守的调控机制[34]。值得注意的是，直接调控杨树 *FT* 基因的表达可以同时改变开花时间和季节性生长停止，表明 *FT* 是整合这两种发育过程的核心节点[4]。然而，*CO* 作为 *FT* 的主要上游调控因子，其作用在木本植物中似乎更为复杂，后续研究发现在杨树中过表达 *CONSTANS* 同源基因并不能改变生殖起始和秋季芽休眠时间，提示多年生木本植物与一年生草本在 *CO*/*FT* 通路的调控机制上存在差异[35]。这些表明越冬休眠是花发育过程中一个关键的转录调控转变节点。

Mfuzz 时序聚类将全基因组表达基因划分为 10 个趋势簇，其中 Cluster 1、4、8 分别对应成花诱导、雄蕊原基形成和花粉成熟 3 个关键阶段。WGCNA 进一步鉴定出 3 个阶段特异性共表达模块(MEpink、MEmagenta、MEbrown)，两者从不同角度相互印证。MEpink 模块(MS1、MS2)的基因多参与细胞壁生成与苯丙烷代谢，对应花芽分化初期的细胞增殖与细胞壁结构发育。与拟南芥花分生组织启动时的早期形态建成类似，但杨树中特有木聚糖生物合成和次生细胞壁相关过程的富集，可能反映了木本植物发育周期更长、需要更强的机械支撑体系来应对风力、雪压等外部胁迫。MEmagenta 模块(MS6)富集囊泡运输和 ATP 合成偶联质子运输等通路，支持休眠期细胞仍维持基础物质转运和能量供应的观点。杨树

中 *SVL* 过表达的转录组分析显示，*SVL* 调控了下游多个参与激素代谢的基因[36]，与本研究中休眠模块内 MADS-box 转录因子的持续存在相呼应。Singh 等[37]报道，杨树中 *SVL* 基因在 ABA 通路下游介导光周期对休眠的控制，本研究中休眠模块内 MADS-box 转录因子的持续存在提示这些调控因子可能参与休眠维持。与拟南芥在春化后 *FLC* 暂时沉默不同，杨树等多年生木本植物花芽每年需重新经历休眠—解除循环，可能依赖表观记忆机制[38]。Wang 等[39]发现杨树 AP2-like 转录因子协调生长与休眠过程。这些表明多年生木本植物在进化中开花调控网络可能发生了改变，这可能是它们对长寿命和季节性环境的适应策略。MEbrown 模块（MS8）富集细胞骨架组织、蛋白复合物组装及细胞外基质组织，与花粉壁构建相呼应。该模块 hub 基因以 bHLH、MYB 和 NAC 转录因子为主，可能是调控花粉成熟与授粉的核心因子。杨树全年转录图谱中的春季模块同样以核糖体生物发生和翻译相关基因为主[25]，本研究中 MS8 阶段 rRNA 转录和蛋白复合物组装的富集与之一致。水稻和拟南芥的花粉后期也呈现核糖体蛋白基因的大规模上调[40]，表明木本与草本植物在花粉授粉阶段的转录表达可能具有进化保守性。

Lescot 等[41]开发的 PlantCARE 数据库为植物启动子顺式作用元件的系统预测提供了重要工具，本研究利用该数据库对 Cluster 1 和 Cluster 8 中 16 个代表性转录因子的启动子区进行顺式作用元件预测，结果显示所有启动子区均广泛富集光响应元件以及赤霉素、脱落酸等多种激素响应元件，同时还富集了低温响应和干旱诱导 MYB 结合位点等非生物胁迫相关元件。光响应元件的广泛存在提示光信号贯穿雄花芽发育始终。Maurya 等[38]指出，光周期调控树木季节性生长的信号通路与拟南芥开花调控通路具有保守性，但多年生木本植物需在整个发育周期持续整合光信号，这与一年生植物开花后迅速完成生活史的模式不同。杨树 *FT*1 和 *FT*2 基因功能的分化也说明光信号通路在木本植物中已发生功能分化[7]。多种激素信号元件的共存表明发育过程中可能存在复杂的协同调控，而低温与干旱元件的富集也佐证了环境信号可能通过转录调控维持逆境适应性的观点。

本研究绘制了毛白杨雄花芽 8 个发育时期的转录组动态图谱，揭示了休眠解除期基因表达的剧烈重编程、阶段特异性表达模块及启动子元件特征。筛选出的候选基因（如 *PtoSEP*2、*PtoSEP*4、*PtoSVP*、*PtoSOC*1、*PtoMYC*2、*PtoTCP*9 等）为利用分子育种技术调控杨树开花、减少花粉提供了重要的基因资源。需要指出的是，本研究的启动子元件分析仅基于序列预测，筛选出的关键转录因子尚需通过酵母单杂（Y1H）或双荧光素酶等试验进行靶向验证，未来可整合小 RNA 和 DNA 甲基化等多组学数据，并针对筛选到的核心基因在杨树本体内开展功能解析，以期更全面地阐明毛白杨雄花芽发育的分子调控网络。

4　结　　论

本研究针对毛白杨雄花芽从成花诱导到花粉成熟需经历越冬休眠这一多年生木本植物特有的发育特征，利用参考基因组比对策略对 8 个连续发育时期进行转录组时序分析，系统揭示了基因表达的阶段性动态规律。主要结论如下。

（1）差异表达基因数量在发育阶段转换中呈现剧烈波动：越冬休眠解除后（MS8 vs MS7）差异基因最多（上调 10 863 个，下调 10 890 个），表明休眠解除伴随大规模转录重编程。

（2）Mfuzz 时序聚类将所有表达基因划分为 10 个趋势簇，其中 Cluster 1、4、8 分别对应成花诱导、雄蕊原基形成和花粉成熟 4 个关键阶段，各簇的 GO 富集与相应发育事件吻合，揭示了不同时期基因功能的时序转换特征。

（3）WGCNA 鉴定出 3 个阶段特异性共表达模块（MEpink、MEmagenta、MEbrown），分别参与早期细胞壁形成与苯丙烷代谢、休眠期囊泡运输与能量供应、花粉成熟期细胞骨架与细胞外基质组织，从网络层面印证了模块功能与发育进程的协同性。

（4）Cluster 1 和 Cluster 8 中 16 个关键转录因子的启动子区广泛富集光响应及赤霉素、脱落酸等多种激素响应元件，提示光信号与激素信号可能协同调控雄花芽发育。

（5）RT-qPCR 验证了 6 个花发育相关基因（*PtoMYC*2、*PtoSEP*2、*PtoSEP*4、*PtoSOC*1、*PtoSVP*、*PtoTCP*9）的表达趋势，与 RNA-seq 结果高度一致（$r > 0.9$）；且不同 MADS-box 家族成员（*PtoSEP*2、*PtoSVP*、*PtoSEP*4、*PtoSOC*1）在雄花芽发育过程中呈现差异化的表达模式。

研究结果为深入理解多年生木本植物花发育的阶段性调控机制提供了理论依据，也为通过分子设计育种调控杨树开花时间、减少花粉致敏源提供了候选基因资源（如 *PtoSEP*2、*PtoSEP*4、*PtoSVP*、*PtoSOC*1、*PtoMYC*2、*PtoTCP*9 等）。未来可整合表观遗传等多组学数据，并针对 MEbrown 模块中的核心 bHLH、MYB 和 NAC 转录因子开展功能研究，以期更全面地阐明杨树雄花芽发育的分子调控网络。

参 考 文 献

[1] 康向阳. 新一轮毛白杨遗传改良策略的思考和实践 [J]. 北京林业大学学报, 2016, 38(7): 1−8.
Kang X Y. Reflection and practice on new strategy of genetic improvement of *Populus tomentosa* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2016, 38(7): 1−8.

[2] 杨红青, 王亚飞, 贾黎明. 短轮伐期毛白杨 S86 纸浆林生长对沟灌水肥耦合的响应 [J]. 北京林业大学学报, 2023, 45(3): 68−78.
Yang H Q, Wang Y F, Jia L M. Response of growth of short-rotation *Populus tomentosa* S86 pulpwood plantation to fertigation coupling under furrow irrigation [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2023, 45(3): 68−78.

[3] 章小铃, 孙佩, 吴立栓, 等. 杨树不同种质花粉萌发和致敏蛋白的差异 [J]. 林业科学, 2017, 53(2): 54−64.
Zhang X L, Sun P, Wu L S, et al. Differences in pollen germination and allergenic proteins among different poplar germplasms [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2017, 53(2): 54−64.

[4] Bohlenius H, Huang T, Charbonnel-Campaa L, et al. CO/FT regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees [J]. Science, 2006, 312: 1040−1043.

[5] Mohamed R, Wang C T, Ma C, et al. *Populus CEN/TFL*1 regulates first onset of flowering, axillary meristem identity and dormancy release in *Populus* [J]. The Plant Journal, 2010, 62(4): 674−688.

[6] Sheng X, Mahendra R A, Wang C T, et al. CRISPR/Cas9 mutants delineate roles of *Populus FT* and *TFL*1*/CEN/BFT* family members in growth, dormancy release and flowering [J]. Tree Physiology, 2023, 43(6): 1042−1054.

[7] Hsu C Y, Adams J P, KimH, et al. *FLOWERING LOCUS T* duplication coordinates reproductive and vegetative growth in perennial poplar [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(26): 10756−10761.

[8] Shan H, Cheng J, Zhang R, et al. Developmental mechanisms involved in the diversification of flowers [J]. Nature Plants, 2019, 5(9): 917−923.

[9] Bowman J L, Moyroud E. Reflections on the ABC model of flower development [J]. The Plant Cell, 2024, 36(5): 1334−1357.

[10] Wu Q, Wu Y, Li R, et al. Research progress on the regulation of plant floral organ development by the *MADS-box* gene family [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(18): 8946.

[11] Brunner A M, Nilsson O. Revisiting tree maturation and floral initiation in the poplar functional genomics era [J]. New Phytologist, 2004, 164(1): 43−51.

[12] Baral R, Vainer A, Melzer S, et al. “Bud to bloom”—hormonal coordination in floral initiation [J]. Plant Biology, 2025, 27(7): 1271−1284.

[13] Izawa T. What is going on with the hormonal control of flowering in plants? [J]. The Plant Journal, 2021, 105(2): 431−445.

[14] Vainer A, Panda S, Kazachkova Y, et al. Hormone-centric multi-omics atlas of flower and early fruit development in tomato [J]. Plant Communications, 2026, 7(1): 101674.

[15] Leite M A P, Kersten B, Kim G, et al. *ARR*17 controls dioecy in *Populus* by repressing B-class MADS-box gene expression [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2022, 377.

[16] Müller N A, Kersten B, Leite M A P, et al. A single gene underlies the dynamic evolution of poplar sex determination [J]. Nature Plants, 2020, 6(6): 630−637.

[17] Klocko A L, Elorriaga E, Ma C, et al. Variation in floral form of CRISPR knock-outs of the poplar homologs of *LEAFY* and *AGAMOUS* after *FT* heat-induced early flowering [J]. Horticulture Research, 2023, 10(8): uhad132.

[18] Chen Z, Rao P, Yang X, et al. A global view of transcriptome dynamics during male floral bud development in *Populus tomentosa* [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 722.

[19] Song Y, Ma K, Ci D, et al. Sexual dimorphic floral development in dioecious plants revealed by transcriptome, phytohormone, and DNA methylation analysis in *Populus tomentosa* [J]. Plant Molecular Biology, 2013, 83: 559−576.

[20] An X M, Wang D M, Zhang Z Y, et al. Cloning and RNAi construction of a *LEAFY* homologous gene from *Populus tomentosa* and preliminary study in tobacco [J]. Forestry Studies in China, 2005, 7(3): 15−21.

[21] 于来, 安新民, 曹冠琳, 等. *PtAP*3 不育结构转化毛白杨的研究 [J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(5): 15−20.
Yu L, An X M, Cao G L, et al. Transformation of *Populus tomentosa* with *PtAP*3 sterile construct [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2010, 32(5): 15−20.

[22] Han K Y, Lai M, Zhao T Y, et al. Plant YABBY transcription factors: a review of gene expression, biological functions, and prospects [J]. Critical Reviews in Biotechnology 2025, 45(1): 214–235.

[23] 郝颖颖, 周明珠, 韩开元, 等. 毛白杨 *PtYABBY* 基因家族 3 个成员的克隆与表达分析 [J]. 北京林业大学学报, 2022, 44(1): 48−57.
Hao Y Y, Zhou M Z, Han K Y, et al. Cloning and expression analysis of three members of *PtYABBY* gene family in *Populus tomentosa* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2022, 44(1): 48−57.

[24] Li Y, Wu R, Chen T, et al. Comprehensive genome-wide characterization of the MIKC-type MADS-box family members and the dynamic expression profiling throughout the development of floral buds in *Populus tomentosa* [J]. Industrial Crops and Products, 2024, 222: 119968.

[25] Marcon A, RomaÑach L G, AndrÉ D, et al. A transcriptional roadmap of the yearly growth cycle in *Populus* trees [J]. The Plant Cell, 2025, 37(9): koaf208.

[26] An X M, Gao K, Chen Z, et al. High quality haplotype-resolved genome assemblies of *Populus tomentosa* Carr., a stabilized interspecific hybrid species widespread in Asia [J]. Molecular Ecology Resources 2022, 22(2): 786–802.

[27] Jin J, Tian F, Yang D C, et al. PlantTFDB 4.0: toward a central hub for transcription factors and regulatory interactions in plants

[J]. Nucleic Acids Research, 2017, 45(D1): D1040−D1045.

[28] Chen C, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194−1202.

[29] Langfelder P, Horvath S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis [J]. BMC Bioinformatics, 2008, 9(1): 559.

[30] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. Genome Research, 2003, 13(11): 2498−2504.

[31] Yang X, Zhao T, Rao P, et al. Morphology, sucrose metabolism and gene network reveal the molecular mechanism of seed fiber development in poplar [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 246: 125633.

[32] Kolli R. Seasons change and so do trees: expression profiling of aspen reveals season-specific gene hubs [J]. The Plant Cell, 2025, 37(9): koaf213 .

[33] Ruttink T, Arend M, Morreel K, et al. A molecular timetable for apical bud formation and dormancy induction in poplar [J]. The Plant Cell, 2007, 19(8): 2370−2390.

[34] Howe G T, Horvath D P, Dharmawardhana P, et al. Extensive transcriptome changes during natural onset and release of vegetative bud dormancy in *Populus* [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 989.

[35] Hsu C Y, Adams J P, No K, et al. Overexpression of constans homologs *CO*1 and *CO*2 fails to alter normal reproductive onset and fall bud set in woody perennial poplar [J]. PLoS ONE, 2012, 7(9): e45448.

[36] Wang D, Cheng R, Liu Y, et al. Transcriptome analysis of *Populus* overexpression in SVL transcription factor [J]. Forests, 2023, 14(9): 1692.

[37] Singh R K, Miskolczi P, Maurya J P, et al. A tree ortholog of SHORT VEGETATIVE PHASE floral repressor mediates photoperiodic control of bud dormancy [J]. Current Biology, 2019, 29(1): 128−133.

[38] Maurya J P, BhaleraO R P. Photoperiod- and temperature-mediated control of growth cessation and dormancy in trees: a molecular perspective [J]. Annals of Botany, 2017, 120(3): 351−360.

[39] Wang J, Liao X, Wu Z, et al. Genetic control of seasonal meristem arrest in trees [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2025, 122(48): e2505641122.

[40] Rehman S, Bahadur S, Xia W. An overview of floral regulatory genes in annual and perennial plants [J]. Gene, 2023, 885: 147699.

[41] Lescot M, Déhais P, Thijs G, et al. PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences [J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30(1): 325−327.

（责任编辑　赵田芸
责任编委　马履一）