

多组学比较解析抗病与感病杨树应对胶孢炭疽菌胁迫的差异调控机制

张林萱¹ 潘欣瑜¹ 樊海霞² 田呈明^{1*}

(1. 北京林业大学林学院, 北京 100083; 2. 云南省林业和草原科学院, 云南昆明 650204)

摘要: 随着杨树在我国乃至全球的大规模种植, 其病害问题日益突出, 尤其是由胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 引起的炭疽病对林业生产构成了严重威胁。尽管前人对病原菌的侵染机制进行了研究, 但寄主杨树在代谢与转录水平上的抗病与易感响应机制仍缺乏系统解析。本研究以抗病树种欧美杨 (*Populus × canadensis*, Pc) 和感病的 84K 杨 (*Populus alba × P. glandulosa*, 84K) 为材料, 接种胶孢炭疽菌, 结合转录组与代谢组分析, 比较 2 种杨树在病原菌胁迫前后的分子响应特征。结果显示, 在病原胁迫前, 欧美杨多个防御相关通路 (如苯丙烷代谢和黄酮类生物合成) 的基因表达水平和代谢物积累量均显著高于 84K 杨。接种病原菌后, 欧美杨的防御响应集中于少数关键通路, 基因表达变化与代谢物积累呈现高度一致性; 而 84K 杨则表现出广泛的代谢谱重构和多通路的转录激活, 但基因与代谢物之间的关联性较弱。本研究从多组学层面揭示了不同抗性杨树在应对病原胁迫时的分子调控差异, 为进一步探究杨树抗病机制提供了理论基础。

关键词: 杨树炭疽病; 胶孢炭疽菌; 代谢组; 转录组; 防御应答

中图分类号: S763.11 文献标识码: A 文章编号: 2097-5279(2025)04-0005-09

Multi-omics comparative analysis reveals differential regulatory mechanisms in resistant and susceptible poplar in response to *Colletotrichum gloeosporioides* infection

ZHANG Linxuan¹ PAN Xinyu¹ FAN Haixia² TIAN Chengming^{1*}

(1. College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. Yunnan Academy of Forestry and Grassland, Kunming 650204, China)

Abstract: With the large-scale cultivation of poplar in China and worldwide, disease management has become an increasingly critical challenge, particularly for anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Cg), which poses a serious threat to forestry production. Although previous studies have revealed certain aspects of the pathogen's infection mechanisms, the resistance and susceptibility responses of poplar at the metabolic and transcriptional levels have not been systematically elucidated. In this study, a resistant genotype (*Populus × canadensis*, Pc) and a susceptible genotype (*Populus alba × P. glandulosa*, 84K) were used as experimental materials. Pathogen inoculation assays combined with integrated transcriptomic and metabolomic analyses were performed to compare their molecular response profiles before and after pathogen stresses. The results showed that prior to pathogen challenge, Pc exhibited significantly higher expression levels of defense-related genes and greater accumulation of corresponding metabolites in several key pathways (such as phenylpropanoid metabolism and flavonoid biosynthesis) compared with 84K. Following pathogen inoculation, integrated transcriptomic and metabolomic analyses revealed that the defense response in Pc was concentrated in a limited number of critical pathways, with strong consistency observed between changes in gene expression and metabolite accumulation. In contrast, 84K displayed extensive metabolic reprogramming and multi-pathway transcriptional activation, yet showed weaker correlation between gene expression and metabolite profiles. This multi-omics study elucidates the distinct molecular regulatory strategies employed by poplar genotypes with differing resistance levels in response to pathogen stress, providing theoretical insights into the disease resistance mechanisms in poplar.

Keywords: Poplar anthracnose; *Colletotrichum gloeosporioides*; metabolomics; transcriptomics; defense responses

杨树 *Populus* spp. 是全球分布广泛且具有重要经济与生态价值的速生树种之一, 在造林、木材生产和

收稿日期: 2025-07-14; 修回日期: 2025-09-05。

基金项目: 北京市自然科学基金项目(6222040)。

* 通信作者: 田呈明 (E-mail: chengmt@bjfu.edu.cn), 教授。

生态恢复中发挥着重要作用(Xi et al., 2021)。根据第九次全国森林资源清查结果,中国人工杨林面积达757万 hm^2 ,蓄积量达5.46亿 m^3 ,居世界第一(Zhang et al., 2023),但大规模单一栽培加剧了病害风险,尤其是由胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.引起的炭疽病,已成为威胁杨树健康和林业可持续发展的重要病害(Zhang et al., 2022; Zhang et al., 2023)。

在“寄主-病原菌互作”框架下,病原菌依靠一系列致病策略侵染寄主,包括在叶表形成附着胞、分泌多种毒力因子和效应蛋白来抑制寄主免疫(Wang et al., 2021; Liu et al., 2022)。寄主则通过多层次防御体系进行应对:第一层是构成性防御(constitutive defense),包括表皮角质层、细胞壁加固及预先积累的抗菌次生代谢物(如酚酸、黄酮类等),可在病原入侵前形成“预防性防线”;第二层是诱导性防御(induced defense),在病原识别后启动,以PAMP(Pathogen-Associated Molecular Pattern)触发免疫(PAMP-Triggered Immunity, PTI)和效应子触发免疫(Effector-Triggered Immunity, ETI)为核心,伴随活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)爆发、激素信号转导及防御相关基因上调,几者相互配合,共同决定抗病效率(Yogendra et al., 2016; Yuan et al., 2021; 严霞等, 2018)。

近年来,杨树抗病分子网络研究取得新进展。通过构建杨树抵御炭疽病的调控网络,发现转录因子PagWRKY18可通过调控ROS稳态平衡,在生长与构成性防御之间实现动态平衡,从而提升杨树抗性(Chen et al., 2024)。此外,对抗菌物质的研究证实了酚类化合物对杨树炭疽病菌的显著抑制作用;而苯丙烷代谢通路、黄酮类生物合成通路在杨树对炭疽病的诱导抗性中发挥重要作用(Zhang et al., 2022; Zhang et al., 2023; Xing et al., 2024)。然而,现有研究多聚焦于单一品种的杨树,关于不同抗性基因型在病原菌胁迫前后的构成性防御特征以及转录与代谢水平的协同调控机制仍缺乏系统解析。

欧美杨 *Populus × canadensis* Moench(Pc)在多次接种 *C. gloeosporioides* 后仍表现出显著的抗病性,而84K杨 *Populus alba × P. glandulosa* '84K'(84K)则表现出易感特征(Zhang et al., 2023; Xing et al., 2024)。基于此,本研究假设抗病的欧美杨具有通过特异性代谢通路激活诱导性防御的能力,而感病型84K的防御反应则可能存在调控失衡与代谢失稳的问题。为验证这一假设,本研究整合转录组与代谢组数据,比较欧美杨与84K杨在 *C. gloeosporioides* 接种前后的分

子响应差异,旨在描述杨树防御系统在不同抗性基因型中的作用模式,为杨树抗病品种分子育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

欧美杨和84K杨的组培苗、胶孢炭疽菌 CFCC 80308(Cg)由北京林业大学森林病理学实验室提供(Zhang et al., 2023; Xing et al., 2024)。组织培养条件:温度25℃、湿度60%、16 h光照/8 h黑暗。在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(Potato dextrose agar medium, PDA)上培养胶孢炭疽菌7 d,用无菌水收集分生孢子,并调整浓度至 10^6 个孢子/mL。分别取30 μL 孢子悬浮液接种于组织培养5~8周的欧美杨和84K杨的叶片表面作为实验组,以无菌水作为对照。所有的实验组和对照组幼苗再在组织培养条件下培养6 d(Kim et al., 2022)。样品于-40℃冷冻干燥24 h,经研磨仪(MM 400, Retsch GmbH, 德国; 30 Hz, 1 min)粉碎后置于-20℃保存待测。在后续分析中,为便于区分不同处理条件下的样本,采用如下简称:接种胶孢炭疽菌的84K杨样本标记为“84K-Cg”,欧美杨样本标记为“Pc-Cg”;以无菌水处理的84K杨对照样本标记为“84K-No”,欧美杨对照样本标记为“Pc-No”。该命名体系将贯穿于后续组学数据分析及图表展示中。

1.2 RNA提取与文库构建

采用TRIzol试剂(Invitrogen, 美国)提取总RNA。使用NanoDrop 2000分光光度计(Thermo Scientific, 美国)检测RNA纯度与浓度,Agilent 2100 Bioanalyzer(Agilent Technologies, 美国)评估完整性。利用VAHTS Universal V6 RNA-seq建库试剂盒(诺唯赞, 中国)构建文库,转录组测序由欧易生物技术有限公司(中国上海)完成。每组实验设置3个生物学重复。

1.3 RNA测序与数据处理

文库在Illumina NovaSeq 6000平台(美国)上进行150 bp双端测序。使用fastp v0.20.0过滤低质量读段和接头后获得清洁读段,通过HISAT2 v2.2.1比对至参考基因组,采用FPKM(Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped fragments)量化基因表达水平,HTSeq-count获取读段计数。采用DESeq2筛选差异表达基因(Differentially Expressed Genes, DEGs),显著性阈值设为 Q 值 <0.05 且表达倍数变化 >2 (上调)或 <0.5 (下调)。利用GO功能富集分析。基于预定义基因集,通过基因集富集分析(Gene Set Enrichment Analysis, GSEA)按差异表达水平排序识别富集通路

(Anders et al., 2015; Chen et al., 2018; Love et al., 2014; Kim et al., 2019; Trapnell et al., 2010; Yu et al., 2012)。

1.4 代谢物提取与分析

取 60 mg 样品粉末, 加入 600 μ L 含混合内标(4 μ g/mL)的甲醇-水溶液(体积比为 7:3), 均质(60 Hz, 2 min)后冰浴超声 30 min, 4 $^{\circ}$ C, 13 000 r/min 离心 20 min。上清液转移至 LC 进样瓶, -80 $^{\circ}$ C 保存。采用 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μ m; Waters, 美国), 以 0.1% 甲酸水溶液(A)和乙腈(B)为流动相, 通过 Q Exactive Orbitrap 质谱仪(Thermo Scientific, 美国)在正/负离子模式下进行高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)检测。基于公共数据库和武汉迈维生物科技股份有限公司自建数据库(Metware database, MWDB)对样品代谢物进行定性定量分析。获得各样本的代谢物质谱分析数据后, 利用 Analyst 1.6.3 软件对样品中色谱峰进行峰面积积分, 并对不同样本中同一代谢物的质谱峰进行积分校正(Zhang et al., 2025)。

1.5 统计分析

采用 SPSS 17.0 软件(SPSS Inc., 美国)进行单因素方差分析(one-way ANOVA), 通过 Duncan 事后检验确定组间差异显著性($P < 0.05$)。数据可视化通过 Origin 8.0(OriginLab)及 R 软件(v3.2.0)完成(Zhang et al., 2023)。

2 结果与分析

2.1 基因表达量注释及统计

基因表达水平统计的箱线图显示, 各样本的箱体高度较低且分布范围接近(图 1A), 不同处理样本间的整体基因表达水平较为集中, 且样本间差异较小。这在一定程度上反映了测序数据具有较好的均一性与重复性。

基于 FPKM 值的基因表达模式分析结果显示, 所有样本的基因表达量主要集中在 $1 < \text{FPKM} < 10$ 与 $\text{FPKM} \geq 10$ 这 2 个区间(图 1B)。整体来看, 各样本在不同表达区间的分布模式相似, 表明数据在不同处理间具有较高的一致性与稳定性。

2.2 差异基因 GO 富集分析

通过显著性阈值(Q -value <0.05)筛选了差异表达基因最显著富集的 10 个 GO 功能分类(图 2), 并比较分析 4 组弦图。

在 84K-Cg vs. 84K-No 中, 差异基因与多个 GO 分类密切相关, 说明敏感品种在受到病原刺激后启动了免疫应答、防御机制、氧化还原反应和激素信号

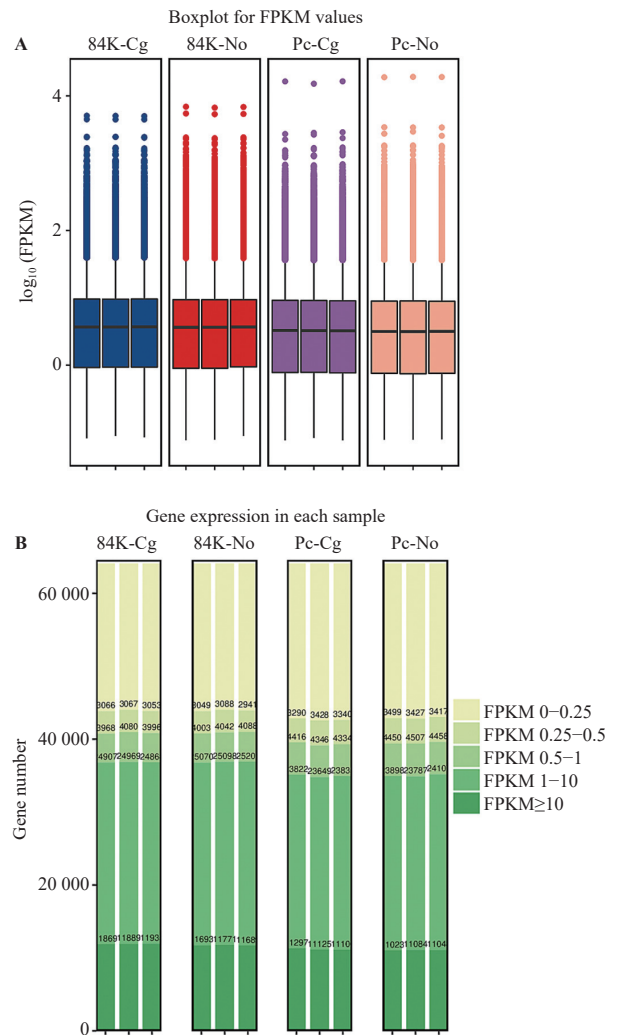


图 1 基因表达水平箱线图及区域分布图

Fig. 1 Boxplot and spatial distribution pattern of gene expression levels

注: A. 图横轴为样本名称, 纵轴为 \log_{10} (FPKM), 每个区域的盒形图对应 5 个统计量(自上而下分别为最大值, 第三四分位数, 中值, 第一四分位数和最小值); B. 图中不同颜色代表不同范围的 FPKM 值, 横轴为样本, 纵轴为蛋白编码基因数量。

Notes: A. the x-axis represents sample names, and the y-axis represents \log_{10} (FPKM). The boxplot for each region corresponds to five statistical metrics (from top to bottom: maximum, third quartile, median, first quartile, and minimum); B. different colors represent different ranges of FPKM values, with the x-axis indicating the samples and the y-axis showing the number of protein-coding genes.

转导等多重功能响应。多个关键基因表达显著上调, 可能与植物试图激活防御系统抵抗病原菌侵袭有关; 部分基因表达降低, 则可能是一些代谢途径被抑制(图 2A)。

在 Pc-Cg vs. Pc-No 中, 差异基因高度富集于抗病和防御相关 GO 分类, 表明抗病品种在病原菌入侵后迅速有效地调动了多个免疫反应途径, 包括次生代谢产物合成、植物激素响应、病原感应信号通路及

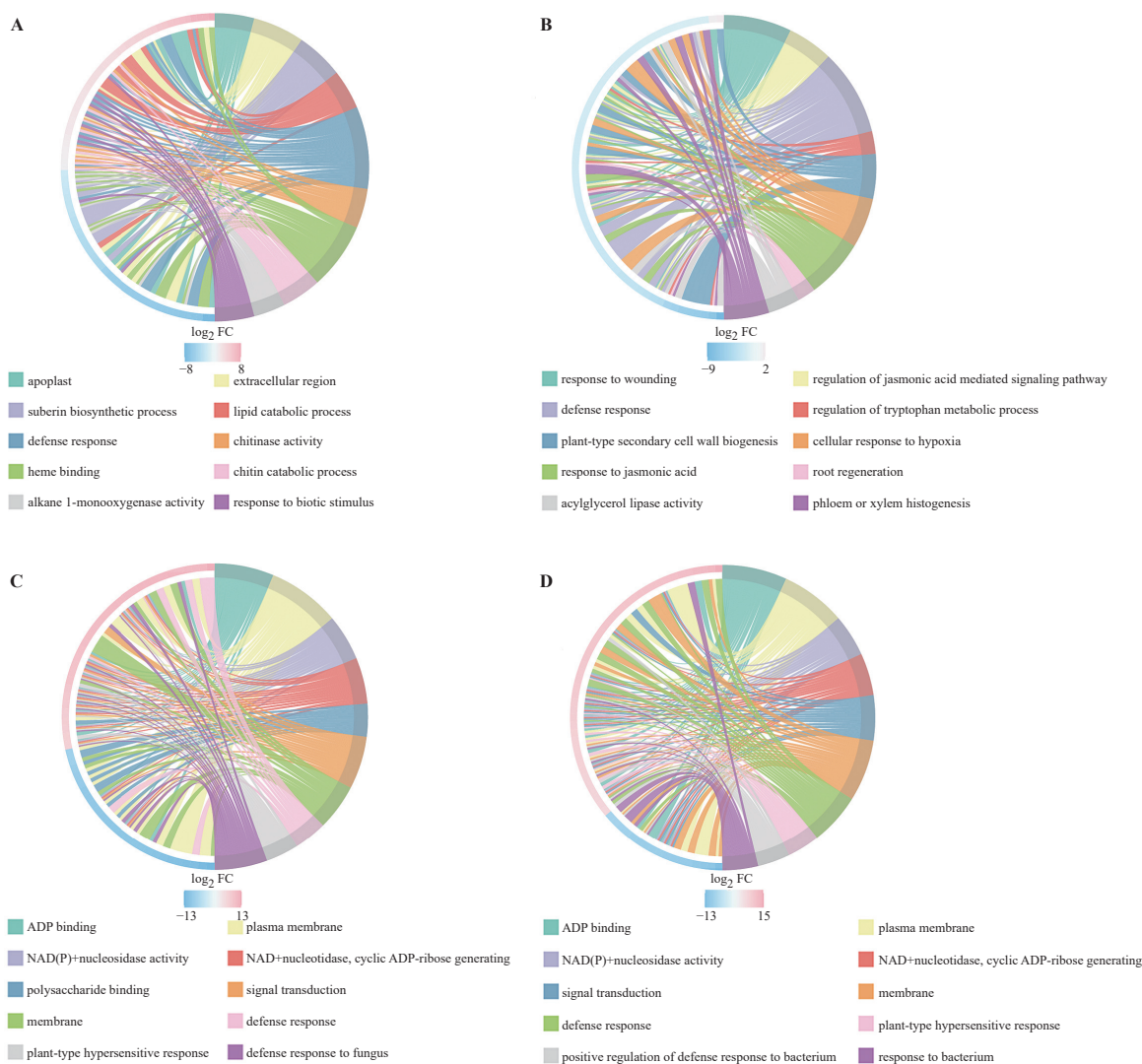


图2 差异基因 GO 富集分析和弦图

Fig. 2 Chord diagram of GO enrichment analysis for differentially expressed genes

注: A. 84K-Cg vs. 84K-No; B. Pc-Cg vs. Pc-No; C. 84K-No vs. Pc-No; D. 84K-Cg vs. Pc-Cg。左侧为每个分类中 $|\log_2FC|$ 最大的10个基因,右侧反映分类组成情况,中间线条表示分类、基因对应关系。外侧热图表示对应基因的 \log_2FC 值。

Notes: A. 84K-Cg vs. 84K-No; B. Pc-Cg vs. Pc-No; C. 84K-No vs. Pc-No; D. 84K-Cg vs. Pc-Cg. The left side shows the top 10 genes with the largest $|\log_2FC|$ in each category, while the right side reflects the composition of the categories. The central lines represent the correspondence between categories and genes. The outer heatmap indicates the \log_2FC values of the corresponding genes.

细胞壁强化等。这些基因在感染条件下的显著上调趋势,强调抗病品种防御反应基因网络的活跃性,体现了其抗病能力的遗传分子机制基础(图2B)。

在84K-No vs. Pc-No中,差异基因与多种基础代谢及防御预备机制相关,如氧化还原稳态、生长发育相关通路及基础防御通路。此基础表达差异说明抗病品种可能在未受侵扰时即具有潜在的抗病优势,从而在感染病菌时能快速响应。这种预置差异表现为抗病品种的多个防御相关基因有显著上调倾向,可见基础基因表达差异可能部分决定了抗病品种的抗病表现(图2C)。

在84K-Cg vs. Pc-Cg中,明显观察到不同基因群组在不同品种间显著差异化表达,体现两品种响应病原感染的基因调控模式差异。部分差异显著的基因集中于免疫相关通路、防御反应、细胞壁强化以及激素响应途径。这种差异可能是导致品种间抗病能力差异的重要遗传基础。敏感品种在某些防御相关基因转录方面上调程度不足或负向调节更为明显,可能解释了敏感品种无法有效抵抗病原菌感染的机制(图2D)。

2.3 杨树中次生代谢物质的主成分分析

主成分分析(principal component analysis, PCA)显

示,空间距离与其代谢谱差异程度呈正相关(图3)。

在84K-Cg vs. 84K-No中,两组样本在空间上明显分离,PC1解释度为52.5%,为区分两处理的主要成分,表明病原接种(Cg)引起了84K杨代谢谱的显著变化。样本间点位分布较为分散,说明代谢响应幅度大且模式不均一,可能涉及多条代谢通路的广泛重构(图3A)。

在Pc-Cg vs. Pc-No中,两组样本在三维空间中分布较近,PC1(53.5%)为主要区分维度,但总体变化幅度较小。结果表明Pc品种在病原胁迫下代谢谱保持相对稳定,代谢调整可能集中于特定防御相关通路,而非大范围代谢重编程(图3B)。

在84K-No vs. Pc-No中,两组样本明显分离,PC1

与PC2均具有较高解释度,表明两品种在基础代谢水平上存在显著差异。Pc样本点分布较为集中,表明其基础代谢谱稳定性较高;84K样本分布相对分散,可能反映基础代谢背景差异,为品种抗性差异提供了潜在的物质基础(图3C)。

在84K-Cg vs. Pc-Cg中,两组样本在3个主成分轴上均表现出显著分离,PC1贡献率高达82.3%,说明两组样本在病原感染后的代谢响应策略差异明显。抗性品种的代谢变化模式相对集中,而84K样本则变化幅度较大且分布分散,表明抗病机制可能具有基因型特异性(图3D)。

2.4 杨树中次生代谢物质相关性分析

对差异最显著的20个代谢物(基于P-value筛选)

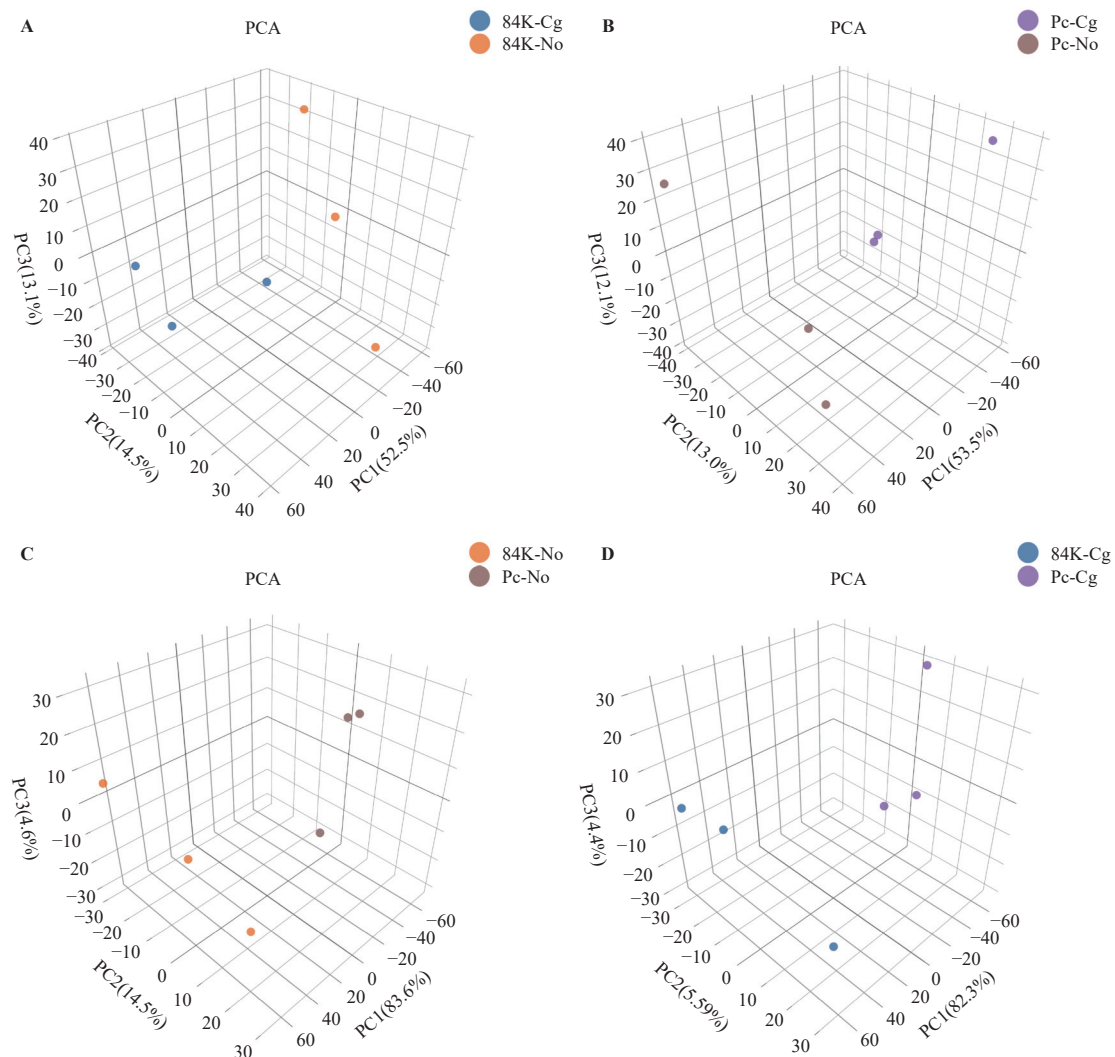


图3 代谢物主成分分析(PCA)三维得分图

Fig. 3 Three-dimensional principal component analysis (PCA) score plot of metabolites

注: A. 84K-Cg vs. 84K-No; B. Pc-Cg vs. Pc-No; C. 84K-No vs. Pc-No; D. 84K-Cg vs. Pc-Cg。三维坐标分别为不同主成分解释率,图中每个点代表一个样品,不同颜色和形状组合表示不同样本分组。

Notes: A. 84K-Cg vs. 84K-No; B. Pc-Cg vs. Pc-No; C. 84K-No vs. Pc-No; D. 84K-Cg vs. Pc-Cg. The three-dimensional coordinates represent the variance explained by different principal components. Each point in the figure represents a sample, and the combination of distinct colors and shapes indicates different sample groups.

的 Pearson 相关性分析结果显示,不同处理条件下的代谢网络具有明显的调控特征(图 4)。

在代谢物相关性层面,苯丙烷类与黄酮类物质在不同品种及处理下表现出显著的关联模式。84K 杨在病原菌胁迫下(84K-Cg vs. 84K-No),苯丙烷类物质与多种黄酮类物质之间呈正相关,表明其在胁迫响应中存在一定的代谢通路协同,但整体相关性分布

较为分散,可能反映代谢调控缺乏集中性(图 4A)。相比之下,欧美杨在病原菌胁迫下(Pc-Cg vs. Pc-No)苯丙烷类物质与黄酮类物质的相关性相对较弱,甚至出现负相关,表明其在维持代谢稳态的同时,苯丙烷代谢产物的分配方向可能与 84K 杨不同,部分流向木质素等结构性防御物质(图 4B)。在两品种对照条件比较(84K-No vs. Pc-No)中,苯丙烷类物质与黄

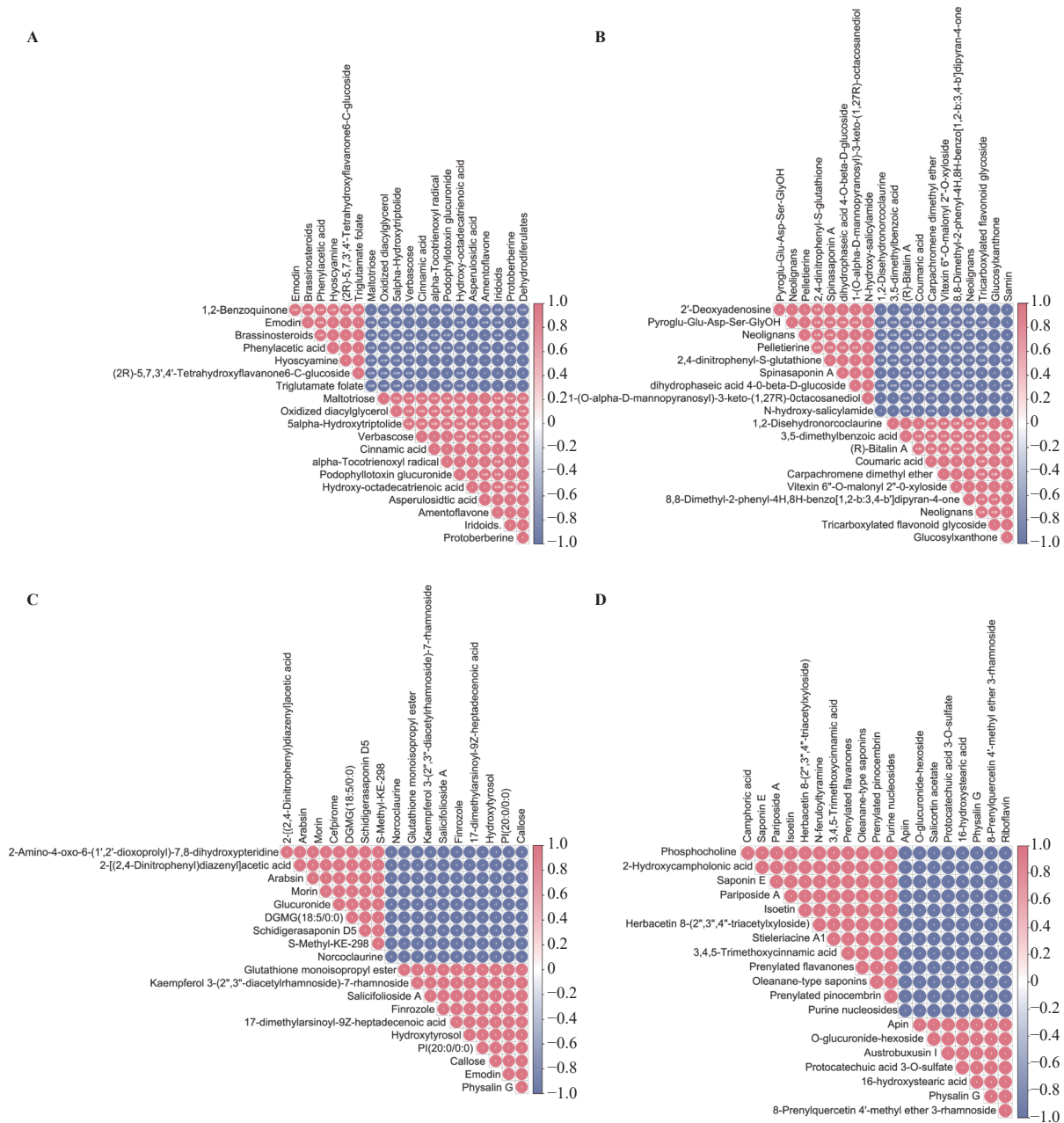


图 4 代谢物质相关性图

Fig. 4 Correlation network of metabolomic profiles

注: A. 84K-Cg vs. 84K-No; B. Pc-Cg vs. Pc-No; C. 84K-No vs. Pc-No; D. 84K-Cg vs. Pc-Cg。使用 Pearson 相关系数衡量两个代谢物之间的线性相关程度。红色表示正相关,蓝色表示负相关。圆点中的数字越大,表示两个变量之间的相关性系数越大。

Notes: A. 84K-Cg vs. 84K-No; B. Pc-Cg vs. Pc-No; C. 84K-No vs. Pc-No; D. 84K-Cg vs. Pc-Cg. Pearson correlation coefficient is used to measure the linear relationship between two metabolites. Red indicates positive correlations, blue indicates negative correlations. The larger the number within the circle, the stronger the correlation coefficient between the two variables.

酮类物质的相关性总体较低,说明二者在基础状态下的代谢网络相对独立(图4C)。在病原菌胁迫下的品种比较(84K-Cg vs. Pc-Cg)中,欧美杨表现出较为紧密的苯丙烷-黄酮类正相关网络,这种较高的耦合水平可能有助于在病原菌入侵时促进防御性次生代谢物的积累(图4D)。

2.5 转录组和代谢组联合分析

对苯丙烷代谢(ko00940)及黄酮类生物合成(ko00941、ko00943)等与抗病性密切相关的通路中21个代表性基因进行分析(表1)。这些基因覆盖了苯丙氨酸解氨酶、查尔酮合成酶、查尔酮异构酶等关键酶编码基因,是调控代谢流向下游产物的核心节点。品种间与处理间的表达特征比较显示,在基础状态(84K-No vs. Cg-No)下,多数基因在欧美杨中的表达水平明显高于84K杨,其中差异最大的为*Pag.A19G000015.v3.1*($\log_2FC=-5.50$),其次为*Pag.A18G000079.v3.1*($\log_2FC=-5.38$)和*Pag.A04G001471.v3.1*($\log_2FC=-4.38$),这些基因的高表达可能构成了欧美

杨在未受胁迫时的防御基础。在病原菌胁迫下(84K-Cg vs. Pc-Cg),通路中的基因依然保持较大的品种间差异,*Pag.A06G002819.v3.1*的差异最为显著($\log_2FC=-9.48$),其次为*Pag.A19G000015.v3.1*($\log_2FC=-8.40$)和*Pag.B05G001232.v3.1*($\log_2FC=-5.29$),表明部分高基线防御基因在胁迫响应中持续发挥作用,且抗病树种和感病树种基因表达量的差异进一步增大。

从感染前后变化幅度来看,84K杨在接种后(84K-Cg vs. 84K-No)确实存在较大的诱导反应,变化较大的基因包括*Pag.A06G002819.v3.1*($\log_2FC=-4.82$)、*Pag.A19G000015.v3.1*($\log_2FC=-2.14$)和*Pag.A01G005119.v3.1*($\log_2FC=1.55$)等,但这种调整涉及的基因分布较为分散,缺乏集中性;而欧美杨在接种后(Pc-Cg vs. Pc-No)的整体变化幅度较小,最大差异为*Pag.A05G001214.v3.1*($\log_2FC=0.83$),表明其防御反应更倾向于维持原有高基线并在少数关键基因上进行精准调节。

表1 相关基因在不同通路中的表达量(FPKM)

Tab. 1 Expression levels (FPKM) of related genes across different pathways

Gene ID	84K-No	84K-Cg	Pc-No	Pc-Cg
<i>Pag.B06G002205.v3.1</i>	1.229 9	1.684 9	3.500 2	3.409 9
<i>Pag.A04G001471.v3.1</i>	0.085 1	0.190 0	1.777 3	2.548 5
<i>Pag.B02G000711.v3.1</i>	2.353 2	5.148 1	8.335 1	7.864 8
<i>Pag.A01G005119.v3.1</i>	2.039 3	5.983 8	7.931 4	7.868 9
<i>Pag.B01G003224.v3.1</i>	2.115 1	3.677 1	8.803 7	7.820 9
<i>Pag.A18G000825.v3.1</i>	4.028 3	2.968 1	10.173 6	10.759 1
<i>Pag.A05G001214.v3.1</i>	2.279 0	2.759 0	6.150 2	10.968 6
<i>Pag.A07G001752.v3.1</i>	0.866 9	0.926 0	3.041 5	3.028 5
<i>Pag.B05G001232.v3.1</i>	0.161 0	0.132 0	3.163 6	5.177 6
<i>Pag.A18G000079.v3.1</i>	0.079 5	0.117 9	3.306 9	4.408 9
<i>Pag.A19G000015.v3.1</i>	0.079 6	0.018 1	3.611 7	6.124 7
<i>Pag.A03G000454.v3.1</i>	0.547 2	0.280 5	5.689 3	3.605 5
<i>Pag.B05G000766.v3.1</i>	3.659 3	1.785 3	19.746 0	27.240 9
<i>Pag.B17G000433.v3.1</i>	17.098 7	16.345 0	37.419 0	34.681 8
<i>Pag.A01G005120.v3.1</i>	0.076 8	0.047 3	1.285 5	1.056 9
<i>Pag.A07G001861.v3.1</i>	0.709 2	1.855 1	8.965 6	9.688 1
<i>Pag.A06G002819.v3.1</i>	0.277 5	0.009 8	8.920 1	7.001 7
<i>Pag.A15G001428.v3.1</i>	0.888 2	2.436 1	14.381 3	13.138 6
<i>Pag.A07G002117.v3.1</i>	11.739 6	14.041 1	103.864 8	93.269 9
<i>Pag.B18G000834.v3.1</i>	6.784 9	6.106 2	15.686 9	17.938 8
<i>Pag.A05G001988.v3.1</i>	141.503 6	143.979 9	344.968 5	313.448 4

结合代谢组数据,苯丙烷代谢及黄酮类生物合成通路中,欧美杨不仅在感病前保持较高的基因表达和代谢物积累水平,还在感病后呈现出与代谢物变化高度一致的有限幅度调节;而84K杨虽然感病后诱导了部分相关基因,但这种诱导与代谢物相关性的一致性较低,且在通路水平上缺乏显著的集中性(图4;表1)。这种“较高基线+有针对性诱导”的特征,可能使欧美杨在病原菌侵染时能够以较低的能

量成本实现有效防御;相对而言,84K杨的“较低基线+分散诱导”模式则可能与其防御效率较低有关。

3 讨论

本研究利用多组学整合分析,系统比较了抗病基因型欧美杨(Pc)与感病基因型84K杨(84K)在*C. gloeosporioides*(Cg)侵染前后的转录与代谢响应特征。结果显示,84K杨在病原菌胁迫下,代谢组成和

转录水平有较大范围的变化;相比之下,欧美杨在接种前即具备相对稳定且富含防御相关成分的代谢背景,在侵染发生后,其防御响应主要集中于数量有限且关联度较高的防御相关基因和代谢通路。这种低幅度但针对性较强的调控模式,与多年生木本植物在长期病原-寄主互作过程中形成的稳健防御策略相一致(Wilson et al., 2023; 许铜硕等, 2020)。

与已有的 PagWRKY18-ROS 稳态调控机制研究相比(Chen et al., 2024),欧美杨在本研究中的防御特征更突出防御物质储备和代谢稳态的维持,这种高基线的背景可能为 ROS 动态平衡及信号转导提供基础支持。84K 杨在苯丙烷代谢和黄酮类合成通路上的诱导响应与 Xing 等(2024)的结果一致,但由于缺乏类似欧美杨的代谢稳态,其防御信号呈现分散激活,可能导致能量利用效率降低。本研究的结论与其他植物-病原互作体系的研究有一定的共性。在马铃薯晚疫病体系中,抗病基因型在病原菌识别后可迅速诱导防御基因和特异代谢物,而感病基因型反应相对迟缓且信号冗余(Yogendra et al., 2016; Deng et al., 2025);在水稻叶枯病中,抗性同样依赖基础代谢与特异防御的协同作用(Islam et al., 2023)。这些结果均表明,构成性防御与诱导性防御的协同是实现高效抗病的普遍策略,而欧美杨的抗性模式可能是这一机制在木本植物中的典型体现。

近年来,多组学整合在解析多年生木本植物抗病机制中的优势日益突显。除杨树外,该策略在柑橘溃疡病(Ke et al., 2023)、苹果白粉病(Tian et al., 2019)等体系中均取得良好效果。相关研究普遍发现,抗病基因型通常在病原菌侵染前就积累较高水平的防御相关代谢物和信号分子,侵染后仅精准放大少数关键通路,从而实现低能耗、高效率的防御。本研究在欧美杨中观察到的“高基线+精准诱导”模式,与这些跨物种研究结果一致,并表明代谢稳态的维持可能是多年生木本植物在长期进化过程中形成的重要适应特征,有助于降低长期代谢负担,并在多重生物或非生物胁迫下提供广谱保护,为木本植物抗逆育种提供理论参考。

结合其他作物的研究结果,本研究的多组学整合分析不仅揭示了杨树抗性差异的分子机制,也与多种植物的已知抗病模式高度吻合。对水稻抗白叶枯病、马铃薯抗晚疫病和葡萄抗白粉病等的研究均表明,高水平的构成性防御与高效的诱导性防御协同是稳健抗性的核心(Amaro et al., 2023; Islam et al., 2023; Zhao et al., 2023)。在这些体系中,苯丙烷代谢

与黄酮类合成通路往往在未感染时即处于高水平运转,感染后再通过特异性信号通路(JA/SA)进一步放大响应,从而以最小能量消耗获得最大防御效益。本研究发现的欧美杨响应模式与此高度一致,其防御基因与防御代谢物在感染前后均呈现低幅度、聚焦式的调节;相对而言,84K 杨更多依赖大规模但可能效率偏低的感染后诱导。这一差异不仅体现了代谢稳态与信号精确性的抗病优势,也为多年生木本植物抗病机制研究提供了跨物种的共性证据。

本研究利用转录组与代谢组的整合分析揭示了不同抗性基因型在病原菌侵染前后的全局调控模式,并直接比较了抗感材料的防御差异,为鉴定抗性代谢标志物和关键调控因子提供了候选靶点,但仍存在一定局限性。如仅针对单一 *C. gloeosporioides* 菌株进行接种试验,尚缺乏在不同生理小种及多种环境条件下防御模式稳定性的验证;同时,候选基因的功能尚需通过转基因或基因编辑等方法进一步验证。未来研究可针对欧美杨中显著上调的转录因子(如 WRKY 家族)开展功能验证,并利用代谢工程手段增强易感材料的防御代谢通路,同时分析在不同气候条件和多种病原菌胁迫下检验防御模式的普适性。这些工作将为杨树抗病品种的精准选育提供依据,并进一步丰富多年生木本植物抗病机制的理论体系。

4 结论

本研究基于转录组与代谢组的整合分析,系统比较了抗病型欧美杨与感病型 84K 杨在胶孢炭疽菌侵染前后的分子响应特征,发现欧美杨在未受侵染时已具备相对稳定且水平较高的防御相关代谢与基因表达背景,在病原菌胁迫后主要通过少量且针对性较强的防御通路进行调节;84K 杨则更多依赖侵染后的广泛代谢重编程和分散的转录诱导。同时,苯丙烷代谢和黄酮类生物合成等典型防御相关通路在欧美杨中呈现“较高基线+有针对性诱导”的响应特征;而 84K 杨则表现为“较低基线+广泛诱导”,且基因表达变化与代谢物积累之间的一致性较低。因此,维持较高的基础防御水平并在病原菌刺激下集中调节关键通路,是多年生木本植物提高防御效率的一种重要策略。上述结果不仅为解析杨树抗病性差异提供了多组学证据,也为抗病品种选育和防御代谢工程提供了潜在的分子靶点参考。

参 考 文 献

许铜硕,刘天国,刘博,等. 2020. 转录组测序及其在植物病原菌、植物

- 与真菌互作研究中的应用与进展[J]. 植物保护, 46(5): 13–17.
- Xu T S, Liu T G, Liu B, *et al.* 2020. Application and progresses in transcriptome sequencing for the study of plant pathogens and plant-fungal interactions[J]. Plant Protection, 46(5): 13–17. (in Chinese)
- 严霞, 牛晓磊, 陶均. 2018. 病原菌诱发的植物先天免疫研究进展[J]. 分子植物育种, 16(3): 821–831.
- Yan X, Niu X L, Tao J. 2018. Research advances on pathogen-Induced plant innate immunity[J]. Molecular Plant Breeding, 16(3): 821–831. (in Chinese)
- Amaro R, Diniz I, Santos H, *et al.* 2023. Hormone changes in tolerant and susceptible grapevine leaves under powdery mildew infection[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 42(6): 3606–3614.
- Anders S, Pyl P T, Huber W. 2015. HTSeq: A Python framework to work with high-throughput sequencing data[J]. Bioinformatics, 31(2): 166–169.
- Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, *et al.* 2018. Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics, 34(17): i884–i890.
- Chen S S, Tan S X, Jin Z L, *et al.* 2024. The transcriptional landscape of *Populus* pattern/effecter-triggered immunity and how PagWRKY18 involved in it[J]. Plant, Cell & Environment, 47(6): 2074–2092.
- Deng L M, Hao J J, Feng J W, *et al.* 2025. Transcriptomic analysis of *Phytophthora infestans* races and evaluation of their pathogenicity on potato[J]. BMC Plant Biology, 25: 716.
- Islam M R, Chowdhury R, Roy A S, *et al.* 2023. Native *Trichoderma* Induced the Defense-Related Enzymes and Genes in Rice against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo)[J]. Plants, 12(9): 1864.
- Ke X R, Wu Z L, Liu Y C, *et al.* 2023. Isolation, antimicrobial effect and metabolite analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* ZJLMB1908 against *Citrus* canker caused by *Xanthomonas citri* subsp. *citri*[J]. Microorganisms, 11(12): 2928.
- Kim D, Paggi J M, Park C, *et al.* 2019. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype[J]. Nature Biotechnology, 37(8): 907–915.
- Kim J H, Castroverde C D M, Huang S, *et al.* 2022. Increasing the resilience of plant immunity to a warming climate[J]. Nature, 607(7918): 339–344.
- Liu N, Meng F L, Tian C M. 2022. Transcriptional network in *Colletotrichum gloeosporioides* mutants lacking Msb2 or Msb2 and Sho1[J]. Journal of Fungi, 8(2): 207.
- Love M I, Huber W, Anders S. 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. Genome Biology, 15(12): 550.
- Tian X, Zhang L, Feng S, *et al.* 2019. Transcriptome analysis of apple leaves in response to powdery mildew (*Podosphaera leucotricha*) infection[J]. International Journal of Molecular Sciences, 20(9): 2326.
- Trapnell C, Williams B A, Pertea G, *et al.* 2010. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation[J]. Nature Biotechnology, 28(5): 511–515.
- Wang X L, Lu D X, Tian C M. 2021. Mucin Msb2 cooperates with the transmembrane protein Sho1 in various plant surface signal sensing and pathogenic processes in the poplar anthracnose fungus *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Molecular Plant Pathology, 22(12): 1553–1573.
- Wilson S K, Pretorius T, Naidoo S. 2023. Mechanisms of systemic resistance to pathogen infection in plants and their potential application in forestry[J]. BMC Plant Biology, 23(1): 404.
- Xi B Y, Clothier B, Coleman M, *et al.* 2021. Irrigation management in poplar (*Populus* spp.) plantations: A review[J]. Forest Ecology and Management, 494: 119330.
- Xing F, Zhang L X, Ge W, *et al.* 2024. Comparative transcriptome analysis reveals the importance of phenylpropanoid biosynthesis for the induced resistance of 84K poplar to anthracnose[J]. BMC Genomics, 25(1): 306.
- Yogendra K N, Kushalappa A C. 2016. Integrated transcriptomics and metabolomics reveal induction of hierarchies of resistance genes in potato against late blight[J]. Functional Plant Biology, 43(8): 766.
- Yu G C, Wang L G, Han Y Y, *et al.* 2012. clusterProfiler: An R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. OMICS: A Journal of Integrative Biology, 16(5): 284–287.
- Yuan M H, Ngou B P M, Ding P T, *et al.* 2021. PTI-ETI crosstalk: An integrative view of plant immunity[J]. Current Opinion in Plant Biology, 62: 102030.
- Zhang L X, Ren Y, Meng F L, *et al.* 2022. Verification of the protective effects of poplar phenolic compounds against poplar anthracnose[J]. Phytopathology®, 112(10): 2198–2206.
- Zhang L X, Meng F L, Ge W, *et al.* 2023. Effects of *Colletotrichum gloeosporioides* and poplar secondary metabolites on the composition of poplar phyllosphere microbial communities[J]. Microbiology Spectrum, 11(3): e04623.
- Zhang L X, Zhu Y X, Stribny J, *et al.* 2025. Comparative multi-omics analysis reveals key pathways in chlorophyll metabolism and stress adaptation in poplar under dual stress[J]. Forests, 16(3): 537.
- Zhao B, Li Y, Wang C, *et al.* 2023. Combined transcriptome and metabolome analysis reveals phenylpropanoid metabolism and hormone signaling pathways involved in potato resistance to late blight[J]. Frontiers in Plant Science, 14: 1134567.