

氮肥对 2 个杨树品种碳氮代谢的影响

杜常健, 张 敏, 张 磊, 胡建军*

(林木遗传育种国家重点实验室, 国家林业和草原局林木培育重点实验室, 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

摘 要: 研究以‘丹红’杨(美洲黑杨)和‘通辽 1 号’杨(小叶杨)为材料, 在田间进行施氮肥和不施氮肥处理, 分析 2 个杨树品种的生长性状、碳氮相关代谢物和发育木质部转录组的变化特征, 探讨不同杨树品种氮肥利用的生理机制, 为杨树的氮高效利用遗传育种奠定基础。结果表明: (1) ‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨的总生物量在施氮处理后分别比不施氮处理提高了 1.69 倍和 1.10 倍; ‘丹红’杨的总生物量在施氮肥和不施氮肥条件下分别是‘通辽 1 号’杨的 13 倍和 10 倍。 (2) 施氮处理显著抑制‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨树皮和木质部中总氮和多种水解氨基酸的含量, 但是没有明显影响木质部的总碳、纤维素、半纤维素和木质素含量。 (3) 施氮处理显著影响了 2 个杨树品种发育木质部碳固定、糖代谢、氨基酸合成等碳氮代谢途径的基因的高表达, 从而促进了植株生物量的积累。研究发现, 施氮处理可以显著促进杨树发育木质部碳氮代谢途径相关基因的高表达, 从而促进了杨树生物量的积累和生长; ‘丹红’杨的木材产量在不同的氮素环境下都远远高于‘通辽 1 号’杨, 更加适合人工林的大面积推广和种植。

关键词: 杨树; 氨基酸; 氮肥; 生长性状; 碳氮代谢

中图分类号: Q945.79; S792.11

文献标志码: A

Effect of Nitrogen Fertilizer on Carbon and Nitrogen Metabolism of Two Poplar Varieties

DU Changjian, ZHANG Min, ZHANG Lei, HU Jianjun*

(State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of National Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: ‘Danhong’ (*Populus deltoides*) and ‘Tongliao 1’ (*Populus simonii*) were used as materials, and treatments with and without nitrogen fertilization were conducted in the field. The changes in growth traits, carbon, and nitrogen-related metabolites, and transcriptome of the developing xylem were analyzed. The physiological mechanism of nitrogen fertilizer utilization in different poplar varieties was discussed, which laid a foundation for the genetic breeding of nitrogen efficient utilization of poplar. The results showed that: (1) The total biomass of ‘Danhong’ and ‘Tongliao 1’ poplar increased 1.69 times and 1.10 times, respectively, under nitrogen application treatment. The total biomass of ‘Danhong’ poplar was 13 times higher than that of ‘Tongliao 1’ poplar under the condition of nitrogen fertilization and 10 times higher than that of ‘Tongliao 1’ poplar under the condition of no nitrogen fertilization. (2) The treatment of nitrogen fertilizer significantly inhibited the contents of total nitrogen and various hydrolyzed amino acids in the bark and xylem of ‘Danhong’ and ‘Tongliao 1’, but did not significantly affect the con-

收稿日期: 2022-10-19; 修改稿收到日期: 2023-02-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32071797); 国家重点研发计划项目(2021YFD2200201); 农业生物育种重大项目(2022ZD04015)

作者简介: 杜常健, 在读博士研究生, 主要从事林木遗传育种研究。E-mail: 1326801617@qq.com

* 通信作者: 胡建军, 博士, 研究员, 主要从事林木遗传育种研究。E-mail: hujj@caf.ac.cn

tents of total carbon, cellulose, hemicellulose, and lignin in the xylem. (3) Nitrogen fertilizer treatment significantly affected the high expression of genes in carbon and nitrogen metabolic pathways such as carbon fixation, sugar metabolism, and amino acid synthesis in the developing xylem of two poplar species, which resulted in biomass accumulation. In this study, we found that nitrogen application treatment significantly promoted the high expression of genes related to the carbon and nitrogen metabolic pathways in the developing xylem of poplar, thus promoting the accumulation of biomass and growth of poplar. The wood yield of ‘Danhong’ poplar was much higher than that of ‘Tongliao 1’ poplar under different nitrogen environments, which was more suitable for large-scale promotion and planting of plantation.

Key words: poplar; amino acid; nitrogen fertilizer; growth traits; carbon and nitrogen metabolism

杨树是重要的造林、经济树种,在世界及中国分布范围极广。随着经济的迅速发展,木材的需求量将越来越大,必须大力发展人工林。在集约经营的人工用材林中,由于林木长期的养分吸收以及不恰当的管理措施,造成人工林地土壤氮素匮乏,难以满足林木正常生长的生理需求,因此土壤氮素有效性已成为限制林木生长的主要因素^[1],选育高氮利用和耐低氮的林木品种是解决这一问题的有效途径。

氮素是植物生长发育必需的大量元素之一,是氨基酸、蛋白质、核苷酸、叶绿素和许多细胞成分等的重要组成成分^[2]。氮素利用与生物量的积累之间的联系机制尚不清楚。碳、氮代谢是植物生长发育最为重要的 2 个基础代谢途径。碳代谢过程包括碳的固定、碳水化合物的合成与利用等过程,固定二氧化碳(CO₂)以产生糖、有机酸和储存碳水化合物。氮代谢过程包括氮素的吸收、同化、转运和氨基酸的合成,最后用于植物的生长。植物已经进化出一种复杂的调节机制来协调碳氮代谢,氮代谢的进行需要碳代谢提供碳骨架和能量,而氮代谢通过光合和光呼吸途径显著影响碳的固定和同化^[3]。碳代谢与氮代谢之间具有高度相关关系,并且林木体内的碳氮代谢是影响木材形成的主要原因。

由于氮代谢的每一个进程都受到自然环境和基因型差异等条件调控,不同的植物品种间氮代谢及生长性状具有丰富的遗传变异。但是在林木育种研究方面,目前还较少关注氮利用效率的不同品种差异,忽视了氮利用效率基因型的研究。而选择高氮利用效率的林木基因型,是实现提高木材产量的有效策略。‘丹红’杨属于美洲黑杨(*Populus deltoides*),具有生长快、氮利用能力较强、干形好等特性,目前世界上人工栽培的杨树品种有 90% 以上都源于黑杨派^[4]。‘通辽 1 号’杨属于小叶杨(*Populus simonii*),是中国乡土树种,具有耐寒、耐旱、耐弱碱性、根系发达和抗风力强等特性,为中国东北及西北地区重要的防护林^[5],但是小叶杨生长缓慢,氮

利用能力较差。选择生长特性差异显著的两个杨树品种可以帮助我们解析不同杨树品种氮利用差异的机制,从而协助解决未来杨树育种和推广种植中遇到的实际问题。

因此,本研究以‘丹红’杨(*P. deltoides* ‘Danhong’)和‘通辽 1 号’杨(*P. simonii* ‘Tongliao1’)为材料,在田间设置施氮肥和不施氮肥处理,比较分析了两个树种的生长表型、总碳、总氮和水解氨基酸含量之间的差异,同时利用高通量测序技术获得了发育木质部的转录组数据,考察了它们的氮响应差异基因表达情况,为今后选育高氮利用效率的杨树新品种提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验地点、材料和处理

试验地设在北京市海淀区中国林业科学研究院玉泉山苗圃。试验地土壤全氮含量 1.275 g/kg,全磷含量 0.797 g/kg,全钾含量 16.0 g/kg。以‘丹红’杨(美洲黑杨)和‘通辽 1 号’杨(小叶杨)为材料,选择健康一致的枝条剪成 10 cm 插穗。在 2020 年 4 月 1 日扦插于 10 cm×10 cm 营养钵中,基质配比为 5∶1 的泥炭和蛭石,并用多菌灵进行消毒处理。培养 1 个月后(5 月 16 日)选择生长一致的杨树幼苗移栽入大田。每个树种均设置施氮肥处理(高氮,HN)和不施氮肥处理(低氮,LN),每处理 3 次生物学重复,每重复 6 株幼苗,株行距为 30 cm×50 cm。6 月 20 日、7 月 10 日、8 月 6 日进行施氮肥处理,每株苗 4 g 尿素[CO(NH₂)₂,含氮量 46.0%]。根据土壤干旱程度平均每个月浇水 1 次,并定期除草。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 生长指标 9 月份,利用数字游标卡尺在地面以上 5 cm 处测量幼苗地径,利用塔尺测量株高。样品风干后,利用电子天平称取根、茎、叶生物量和总生物量。每个树种每个氮处理条件 3 个生物学重复,每重复 6 株幼苗。

1.2.2 总碳和总氮含量 在幼苗离地面 1 m 处取树皮和木质部样品,并风干保存。每个树种每个氮处理条件 3 个生物学重复。样品(4~5 mg)在 920 ℃下于填充有氧化铜的氧化管中氧化物烧。燃烧后形成的气体在填有还原铜的管内还原为 N₂ (650 ℃)。气体通过氮载气流经水阱(P₂O₅)。N₂、CO₂ 经过吸附与解吸附柱分离,然后再进入同位素质谱仪(IRMS,德国)进行同位素分析^[6]。

1.2.3 水解氨基酸含量 在幼苗离地面 1 m 处取树皮和木质部样品,并风干保存。每个树种每个氮处理条件 3 个生物学重复。称取混合均匀的适量样品,在水解管中加入 10~15 mL 6 mol/L 盐酸溶液,将水解管放入冷冻剂中,冷冻 3~5 min,充氮保护,拧紧瓶盖,将水解管放在(110±1) ℃的电热鼓风恒温箱中水解 22 h 后,取出,冷却至室温。打开水解管,将水解液过滤至 50 mL 容量瓶中,用少量水多次冲洗水解管,水洗液移入同一 50 mL 容量瓶内,最后用水定容至刻度线,摇匀。准确吸取 1.0 mL 滤液移入至 15 mL 试管内,40 ℃减压至干;用 1.0 mL pH 2.2 的柠檬酸钠缓冲溶液附溶,振荡混匀后过 0.22 μm 滤膜;利用氨基酸自动分析仪(LA8080,日立,日本)测定水解氨基酸含量^[7]。

1.2.4 纤维素、半纤维素和木质素含量 在幼苗离地面 1 m 处取木质部样品,并风干保存。每个树种每个氮处理条件 3 个生物学重复。水溶性和醇溶性物质的存在,严重影响木质纤维素类生物质原料化学成分测定的结果。以纯水和乙醇对样品进行重复性洗脱,去除样品中包含的无机盐、可溶性糖、含氮化合物、叶绿素、脂质和蜡质等。纯化后的标准样品经过两步酸解,其中的纤维素、半纤维素和果胶等结构性多糖被水解为单糖的形式并溶解于水解液中。酸解后溶液在高效液相色谱仪(Agilent1260,安捷伦,美国)上获得纤维二糖、葡萄糖、木糖、阿拉伯糖及半乳糖醛酸的浓度值,以计算纤维素、半纤维素和果胶含量(标准:NB/T 34057-2017)。在紫外分光光度计(TU-1901,北京)上 320 nm 处获得吸光度值,并计算酸溶木质素含量,酸解后分离的固形物经马弗炉灼烧,以前后差值得出酸不溶木质素含量。

1.3 转录组数据测定和分析 在 9 月份,于幼苗离地面 1 m 处,剥开树皮刮取发育木质部鲜样品,液氮保存并测定转录组。每个树种每个氮处理条件 3 个生物学重复。使用 RNA 试剂盒(Qiagen, Germany)提取总 RNA。在 Illumina Novaseq 平台上对文库准备进行了测序,并生成了 150 bp 的双端读

段。原始数据经过过滤后,使用 TopHat 比对到毛果杨参考基因组上 v3.1^[8-10],然后计算所有基因的 FPKM 值^[9-10],通过 DESeq2 R 包进行高氮和低氮条件下的差异表达分析。基于 FPKM 值的 Baggerly 检验确定不同分组配对比较的差异表达基因,判定标准为|log₂FC| > 0 和矫正的 P < 0.05。通过 R 包 clusterprofile 对候选基因和差异表达基因进行 KEGG 富集分析^[11]。

1.4 数据处理

利用 Excel 和 R(version 4.0.3)软件对原始数据进行统计分析、方差分析和作图。

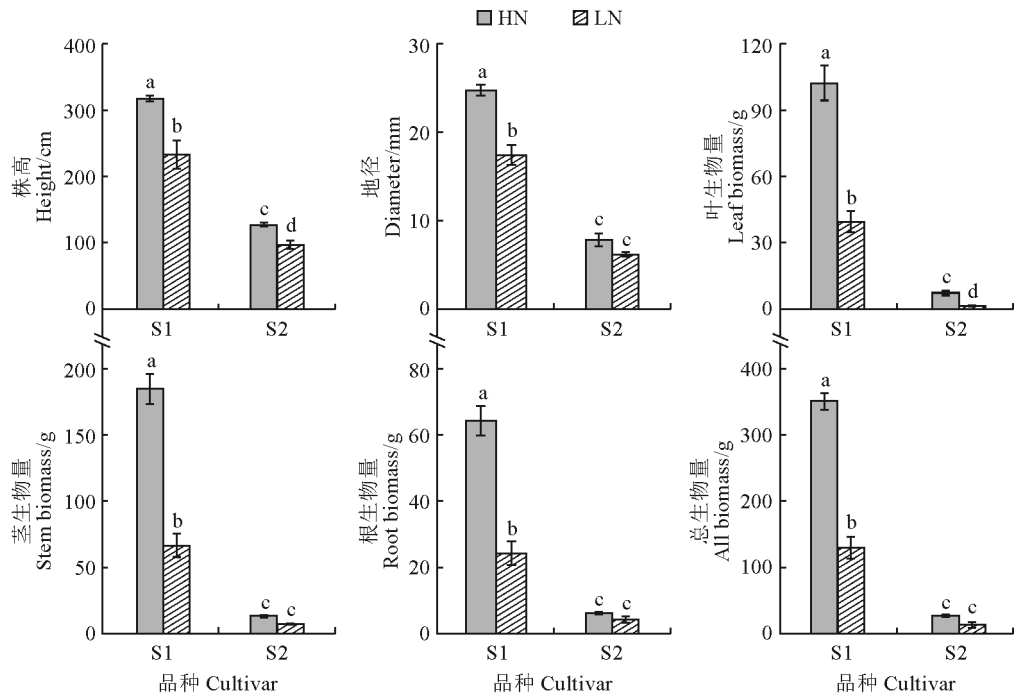
2 结果与分析

2.1 施氮对 2 种杨树幼苗生长表型的影响

图 1 显示,在高氮条件下(HN),‘丹红’杨和‘通辽 1 号’幼苗的地径、株高、叶生物量、茎生物量、根生物量及总生物量均不同程度地高于低氮处理(LN),‘丹红’杨各指标的增幅均达到显著水平(P<0.05),而‘通辽 1 号’杨仅株高和叶生物量增幅显著;‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨的总生物量在高氮处理下分别比低氮处理提高了 1.69 倍和 1.10 倍。同时,在相同氮肥处理(高氮或者低氮)条件下,‘丹红’杨的地径、株高、根生物量、叶生物量、茎生物量、总生物量都显著高于相应的‘通辽 1 号’杨(P<0.05);如‘丹红’杨的总生物量在施氮条件下是‘通辽 1 号’杨的 13 倍,在不施氮条件下是‘通辽 1 号’杨的 10 倍。可见,增施氮肥处理促进了‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨的生长,且对‘丹红’杨的促进效果更明显;‘丹红’杨的在不同氮素环境下的木材产量都显著高于‘通辽 1 号’杨。

2.2 施氮对 2 种杨树幼苗碳、氮代谢的影响

在高氮条件下,‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨树皮和木质部的总氮含量均比低氮处理明显下降,且大多达到显著水平,同时 2 种杨树树皮和木质部的总碳含量与低氮处理相比大多没有显著变化。说明施氮处理能明显促进杨树树皮和木质部总氮含量,而对其总碳含量没有明显影响(图 2)。另外,从图 3 可知,‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨树皮和木质部的纤维素、半纤维素和木质素含量在高氮和低氮肥处理间均没有显著差异;在相同氮肥处理条件下,‘丹红’杨与‘通辽 1 号’杨之间树皮和木质部的纤维素、半纤维素和木质素含量也没有显著差异。以上结果说明增施氮肥处理对杨树树皮和木质部的总氮含量有显著的抑制作用,对其总碳、纤维素、半纤维素和木质素含量均没有显著影响。



S1. ‘丹红’杨;S2. ‘通辽 1 号’杨;HN. 施氮处理(高氮);LN. 不施氮处理(低氮)。不同小写字母代表处理间在 0.05 水平差异显著。下同。

图 1 ‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨在施氮和不施氮条件下生长性状的差异

S1. Danhong; S2. Tongliao 1; HN. Fertilization condition (High N); LN. No fertilization condition (Low N). Different lowercase letters represented a significant difference between high nitrogen and low nitrogen conditions at 0.05 level ($P < 0.05$). The same as below.

Fig. 1 Difference analysis of growth traits between ‘Danhong’ and ‘Tongliao 1’ under fertilization and no fertilization conditions

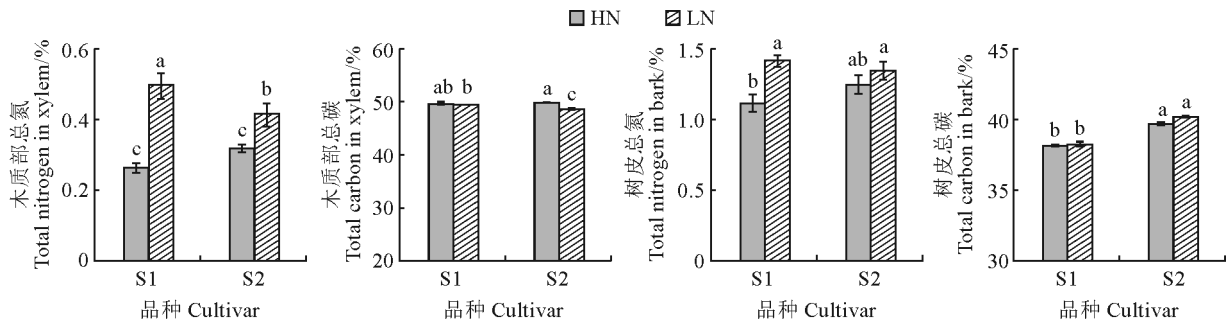


图 2 ‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨在施氮肥和不施氮肥条件下木质部和树皮中总碳和总氮含量的差异

Fig. 2 Difference analysis of total carbon and total nitrogen in xylem and bark of ‘Danhong’ poplar and ‘Tongliao 1’ poplar under fertilization and no fertilization conditions

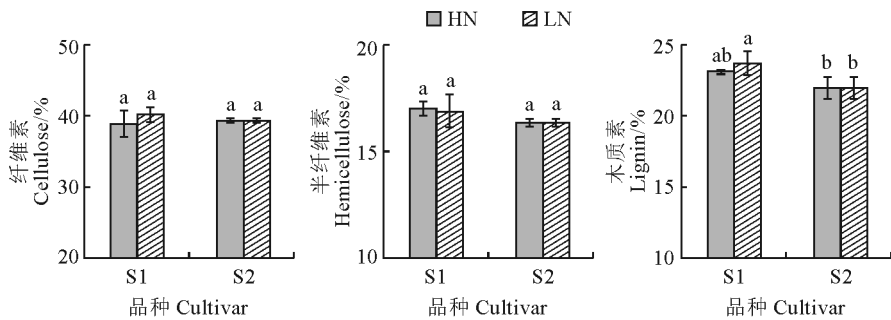


图 3 ‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨在施氮肥和不施氮肥条件下木质部纤维素、半纤维素、木质素含量的差异

Fig. 3 Difference analysis of cellulose, hemicellulose, and lignin contents of ‘Danhong’ and ‘Tongliao 1’ under fertilization and no fertilization conditions

2.3 施氮对 2 种杨树木质部和树皮中水解氨基酸含量的影响

因为施氮处理对 2 种杨树木质部和树皮中总氮含量有显著的影响,所以进一步测定了木质部和树皮中的水解氨基酸含量。

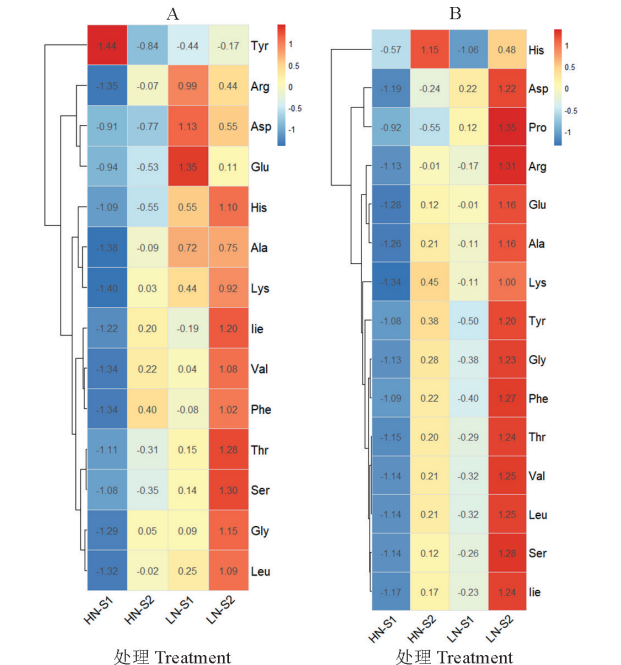
结果(图 4)显示,‘丹红’杨幼苗木质部中的天冬氨酸(Asp)、苏氨酸(Thr)、丝氨酸(Ser)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、苯丙氨酸(Phe)、赖氨酸(Lys)、组氨酸(his)和精氨酸(Arg)含量在高氮和低氮的条件下都显著低于相应‘通辽 1 号’杨(图 4,A),而‘丹红’杨幼苗树皮中的天冬氨酸(Asp)、苏氨酸(Thr)、丝氨酸(Ser)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)和缬氨酸(Val)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、酪氨酸(Tyr)、苯丙氨酸(Phe)、赖氨酸(Lys)、精氨酸(Arg)、脯氨酸(pro)含量在高氮和低氮肥条件下都显著低于相应的‘通辽 1 号’杨(图 4,B)。

同时,‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨树皮和木质部中的水解氨基酸含量在施氮肥后都有比不施肥处理显著降低的趋势。

2.4 施氮条件下 2 种杨树木质部氮响应差异表达基因分析

为了了解 2 个树种氮响应的差异表达基因,首先测定了‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨在高氮和低氮肥条件下发育木质部的转录组。统计(表 1)结果显示,总

共产生了 5.4 亿个高质量的测序片段,总计产生 81.7 Gb 原始数据;以毛果杨参考基因组进行了比对,比对率 80% 以上;GC 含量分布范围为 43.14%~44.3%。进一步对测序数据进行了质控, Q_{20} 大于 98% 以上, Q_{30} 大于 94% 以上,说明测序数据质量合格。



数据进行了标准化处理,色阶表示水解氨基酸含量的高低。
图 4 ‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨在施氮肥和不施氮肥条件下木质部(A)和树皮(B)中水解氨基酸含量差异分析
The color scale represents the difference in hydrolyzed amino acid content.
Fig. 4 Difference analysis of hydrolyzed amino acid content in xylem (A) and bark (B) of ‘Danhong’ and ‘Tongliao 1’ under fertilization and no fertilization conditions

表 1 测序数据统计分析
Table 1 Statistical analysis of sequencing data

试验条件 Condition	样品 Name	过滤后片段 Clean reads	参考基因组比对率 Reference genome mapping/%	质量分值 Q_{20} /%	质量分值 Q_{30} /%	数据总量 Total data/Gb	GC 含量 Content/%
HN	S1	43 153 700	87.04	98.42	95.08	6.47	43.59
	S1	46 094 392	87.84	98.34	94.83	6.91	43.64
	S1	47 598 746	88.06	98.56	95.39	7.14	43.76
	S2	44 664 436	87.28	98.57	95.43	6.70	43.41
	S2	42 544 716	86.73	98.20	94.50	6.38	43.42
	S2	45 885 416	86.90	98.62	95.55	6.88	43.14
LN	S1	44 636 546	83.33	98.13	94.48	6.7	43.46
	S1	44 841 358	80.36	98.33	95.02	6.73	43.64
	S1	44 457 688	82.77	98.29	94.83	6.67	43.80
	S2	46 133 610	85.56	98.36	94.95	6.92	43.77
	S2	49 605 176	81.98	98.18	94.54	7.44	44.30
	S2	45 106 954	87.09	98.30	94.75	6.77	44.00

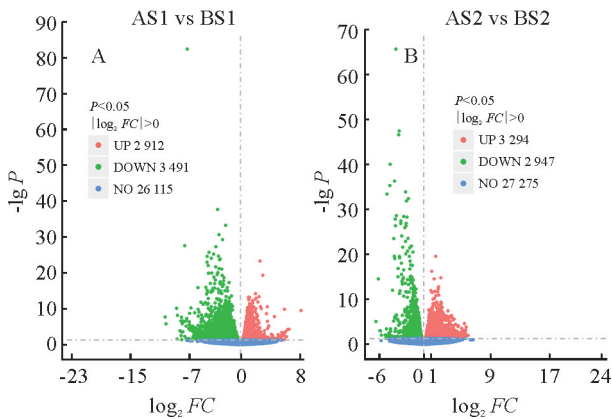


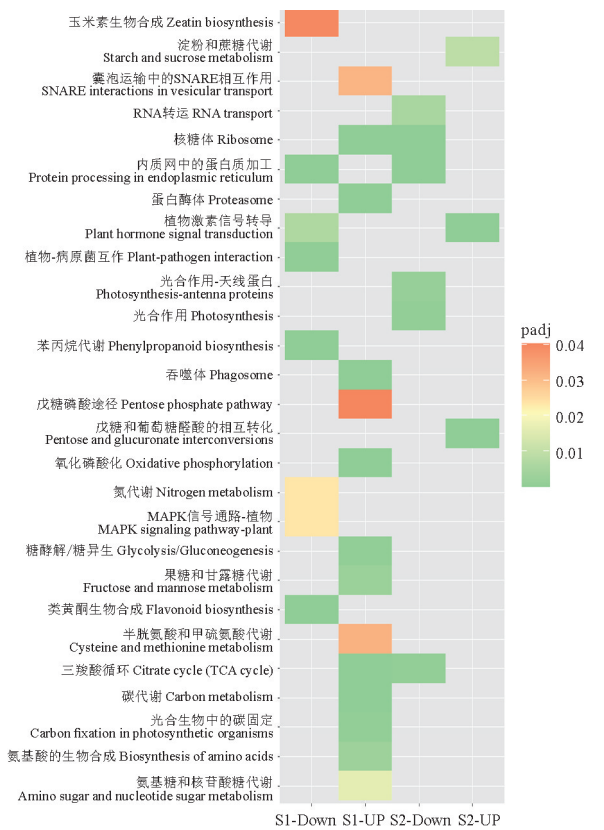
图 5 ‘丹红’杨(A)和‘通辽 1 号’杨(B)在施氮肥和不施氮肥条件下的差异表达基因分析

Fig. 5 Differentially expressed gene analysis of ‘Danhong’ poplar (A) and ‘Tongliao 1’ poplar (B) under fertilization and no fertilization conditions

其次,通过基因的差异表达分析发现(图 5),‘丹红’杨在施氮处理后上调的基因有 2 912 个,下调的基因有 3 491 个,没有明显变化的基因有 26 115 个;‘通辽 1 号’杨在施氮肥处理后上调的基因有 3 294 个,下调的基因有 2 947 个,没有显著变化的基因有 27 275 个。

另外,利用 KEGG 数据库对‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨在施氮处理后上调和下调的差异表达基因进行了功能富集分析。结果(图 6)显示,‘丹红’杨施氮后上调的差异表达基因显著富集到核糖体、氧化磷酸化、蛋白酶体、吞噬体、碳代谢、柠檬酸循环(TCA 循环)、糖酵解/糖异生、光合生物中的碳固定、果糖和甘露糖代谢、氨基酸的生物合成、氨基糖和核苷酸糖代谢、囊泡运输中的 SNARE 相互作用、半胱氨酸和甲硫氨酸代谢、磷酸戊糖等代谢途径途径;‘丹红’杨施氮后下调的差异表达基因主要富集到类黄酮生物合成、内质网中的蛋白质加工、苯丙素生物合成、植物-病原菌互作、植物激素信号转导、MAPK 信号通路、氮代谢、玉米素生物合成等代谢途径。

同时,‘通辽 1 号’杨施氮后上调的差异表达基因主要富集到植物激素信号转导、戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化、淀粉和蔗糖代谢等代谢途径,其下调的差异表达基因主要富集到核糖体、内质网中的蛋白质加工、柠檬酸循环(TCA 循环)、光合作用、光合作用-天线蛋白、RNA 转运等代谢途径。以上结果说明‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨的氮响应基因在碳代谢(如碳的固定和糖酵解/糖异生)和氮代谢(如氨基酸的合成)相关的富集通路有较大的差异。



padj 表示校正后的 P 值;Down 表示施氮处理后下调的基因,Up 表示施氮处理后上调的基因。

图 6 施氮处理后 2 种杨树上调和下调差异表达基因的 KEGG 分析

padj represents the corrected P value. Down represents the down-regulated gene after fertilization treatment, and Up represents the up-regulated gene after nitrogen fertilizer treatment.

Fig. 6 KEGG analysis of up-regulated and down-regulated genes of two poplar varieties after nitrogen fertilizer treatment

3 讨 论

杨树具有速生、易繁殖、适应性强和生产力高等特性,在木材加工、碳汇造林、制浆造纸和生物燃料等方面发挥着重要作用^[12-14]。世界上大部分杨树林生长在氮素贫瘠的地区^[15],易导致杨树林生产力低下。因此本研究利用‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨两个材料进行了田间施氮试验,结果表明‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨的总生物量在氮肥处理后分别比不施氮处理提高了 1.69 倍和 1.10 倍,证明施加氮肥可以提高杨树的生物量,因此在大面积种植的人工林中可以适当施加氮肥从而提高木材的产量。同时,‘丹红’杨的总生物量在施氮条件下是‘通辽 1 号’杨的 13 倍,在不施氮肥条件下是‘通辽 1 号’杨的 10

倍。试验结果说明在不同的氮素环境下,‘丹红’杨的木材产量都远远高于‘通辽 1 号’杨,‘丹红’杨更加适合人工林的大面积推广和种植。‘丹红’杨的优异表现也为进一步选育优良杨树品种提供了坚实的种质基础。目前杨树氮素高效种质资源的收集、筛选和鉴定的遗传改良工作做得相对较少,因此本研究从可持续利用的角度出发,挖掘杨树氮素高效利用的种质资源具有重要经济价值。

碳和氮是 2 个基本的结构元素,林木从土壤中吸收氮元素,从大气中固定 CO₂,这 2 种元素通过碳氮代谢转化为多样化的代谢物。碳氮代谢是林木体内生长发育最为重要的 2 个代谢途径,其在林木生长发育期间的动态变化会影响光合产物的合成、转运以及蛋白质的合成。氮肥(尿素)中 NH₄⁺ 被杨树根部吸收后,通过谷氨酰胺合成酶催化生成谷氨酰胺或者由谷氨酸脱氢酶催化合成谷氨酸,进而合成谷氨酸和转化成其他氨基酸。本研究中施氮处理后‘丹红’杨中氨基酸合成途径的基因显著上调表达,但是‘通辽 1 号’杨中的氨基酸合成途径的基因没有显著上调表达,说明‘丹红’杨对氮肥的响应和利用能力远远高于‘通辽 1 号’杨。碳代谢和氮代谢是紧密联系的,碳代谢能够为氮代谢提供碳骨架和能量^[16]。施氮肥处理后‘丹红’杨的碳相关代谢通路,如碳代谢、柠檬酸循环(TCA 循环)、糖酵解/糖异生、光合生物中的碳固定、果糖和甘露糖代谢等代谢通路的基因显著上调表达。同时,‘通辽 1 号’杨碳相关的基因通路也显著上调表达,如戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化和淀粉和蔗糖代谢等碳代谢通路。有研究表明葡萄糖、淀粉和蔗糖是光合作用产物的主要储存形式,并且在林木的生长和呼吸作用中发挥着重要作用^[17-18],与本研究糖相关代谢显著上调的结果是一致的。碳代谢的研究结果说明氮肥添加后改变了杨树体内的碳代谢过程,碳代谢被快速地调动,从而达到生物量积累和生长的需求。以上碳和氮代谢的结果说明,杨树可以通过调整自身的碳氮代谢平衡来适应不同的氮素环境,在不同的氮素环境下表现出不同的碳氮代谢特征。另外,林木生长同样受到生长素的调节,如赤霉素、茉莉酸、油菜素内酯和水杨酸等^[19-21]。‘通辽 1 号’杨的氮响应差异上调表达基因在植物激素信号转导途径显著富

集,说明激素信号参与氮肥的利用过程。

基因差异表达最终需要代谢物含量变化来体现,因此本研究中测定了林木总碳、总氮、纤维素、半纤维素和木质素以及 15 种水解氨基酸的含量。木本植物为生物燃料和生物制品提供了大量的木质纤维素资源。总碳、纤维素、半纤维素和木质素是细胞壁的重要组成成分,也是木材的主要组成成分^[22]。本研究中‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨之间的总碳、木质素、纤维素和半纤维素含量没有显著的差异,说明 2 个树种的木材材性没有差异,木材的用途也是一致的。施氮肥对 2 个杨树品种茎的总碳、木质素、纤维素和半纤维素含量没有显著的影响,说明氮肥的添加没有影响木材的材性。因此在杨树人工林种植中可以适量施加氮肥,不会影响木材的材性。氨基酸是植物体内氮素的主要存在方式之一。‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨两者之间的木质部和树皮中 15 种水解氨基酸含量差异显著,说明了 2 个树种之间的氨基酸代谢有较大的差异。施用氮肥处理后‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨的木质部和树皮中的多种水解氨基酸含量显著降低,说明了氮肥添加显著影响了氨基酸的积累量。虽然氨基酸含量仅占杨树总干重的小部分,却在杨树生长和生理过程中发挥着重要的作用。植物的生长和氮代谢都受氮素供应水平的调节,许多代谢途径受到氨基酸浓度的调节^[23],这与本研究中氨基酸在氮代谢中发挥重要作用的结果一致。

4 结 论

本研究选用‘丹红’杨和‘通辽 1 号’杨幼苗在田间进行了施氮肥试验。研究发现,在不同的氮素环境下,‘丹红’杨的木材产量都远远高于‘通辽 1 号’杨,因此‘丹红’杨更加适合人工林的大面积的推广和种植。增施氮肥处理显著提高了‘丹红’杨木材的产量,在其人工林种植时可以适当施加氮肥。氮肥处理显著影响了杨树发育木质部碳固定、糖代谢、氨基酸合成等碳氮代谢相关途径的基因高表达,促进了杨树生物量的积累。氮肥的处理也影响了杨树茎的总氮和多种水解氨基酸的含量,但是没有影响其总碳、纤维素、半纤维素和木质素含量。试验结果为杨树氮利用效率的遗传育种研究工作提供了借鉴。

参考文献:

[1] ASHIQ M W, BAZRGAR A B, FEI H M, *et al.* A nutrient-based sustainability assessment of purpose-grown poplar and switchgrass biomass production systems established on marginal lands in Canada[J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 2018, **98**(2): 255-266.

[2] LUO J, ZHOU J, LI H, *et al.* Global poplar root and leaf transcriptomes reveal links between growth and stress responses under nitrogen starvation and excess[J]. *Tree Physiology*, 2015, **35**(12): 1 283-1 302.

[3] GAO Y H, XU Z P, ZHANG L J, *et al.* MYB61 is regulated by GRF4 and promotes nitrogen utilization and biomass production in rice [J]. *Nature Communications*, 2020, **11**: 5 219.

[4] SUN P, JIA H X, CHENG X Q, *et al.* Genetic architecture of leaf morphological and physiological traits in a *Populus deltoides* ‘Danhong’×*P. simonii* ‘Tongliao1’ pedigree revealed by quantitative trait locus analysis[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2020, **16**(3): 45.

[5] DU C J, SUN P, CHENG X Q, *et al.* QTL mapping of drought-related traits in the hybrids of *Populus deltoides* ‘Danhong’×*Populus simonii* ‘Tongliao1’[J]. *BMC Plant Biology*, 2022, **22**(1): 238.

[6] ZHAI L M, CAIJI Z M, LIU J, *et al.* Short-term effects of maize residue biochar on phosphorus availability in two soils with different phosphorus sorption capacities[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, **51**(1): 113-122.

[7] MA Q X, CAO X C, XIE Y N, *et al.* Effects of glucose on the uptake and metabolism of glycine in pakchoi (*Brassica chinensis* L.) exposed to various nitrogen sources[J]. *BMC Plant Biology*, 2017, **17**(1): 58.

[8] MORTAZAVI A, WILLIAMS B A, MCCUE K, *et al.* Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-seq [J]. *Nature Methods*, 2008, **5**(7): 621-628.

[9] GARBER M, GRABHERR M G, GUTTMAN M, *et al.* Computational methods for transcriptome annotation and quantification using RNA-seq[J]. *Nature Methods*, 2011, **8** (6): 469-477.

[10] TRAPNELL C, PACHTER L, SALZBERG S L. TopHat: Discovering splice junctions with RNA-Seq[J]. *Bioinformatics*, 2009, **25**(9): 1 105-1 111.

[11] OGATA H, GOTO S, SATO K, *et al.* KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 1999, **27**(1): 29-34.

[12] CASTRO-RODRÍGUEZ V, GARCÍA-GUTIÉRREZ A, CANALES J, *et al.* Poplar trees for phytoremediation of high levels of nitrate and applications in bioenergy[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, **14**(1): 299-312.

[13] RENNENBERG H, WILDHAGEN H, EHLTING B. Nitrogen nutrition of poplar trees[J]. *Plant Biology* (Stuttgart, Germany), 2010, **12**(2): 275-291.

[14] LU Y, DENG S R, LI Z R, *et al.* Competing endogenous RNA networks underlying anatomical and physiological characteristics of poplar wood in acclimation to low nitrogen availability[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2019, **60**(11): 2 478-2 495.

[15] WEI H R, YORDANOV Y S, GEORGIEVA T, *et al.* Nitrogen deprivation promotes *Populus* root growth through global transcriptome reprogramming and activation of hierarchical genetic networks[J]. *The New Phytologist*, 2013, **200**(2): 483-497.

[16] 孙悦燕, 郭跃东. 遮阴和施氮对黄檗幼苗叶片光合特性和碳氮计量特征的影响[J]. *西北植物学报*, 2022, **42**(10): 1 739-1 748.

SUN Y Y, GUO Y D. Photosynthetic characteristics and C and N stoichiometry of *Phellodendron amurense* seedlings under shading and nitrogen application[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, **42**(10): 1 739-1 748.

[17] 马兴东, 郭晔红, 李梅英, 等. 施氮对干旱区黑果枸杞光合-CO₂ 响应及药效成分的影响[J]. *西北植物学报*, 2020, **40** (7): 1 209-1 218.

MA X D, GUO Y H, LI M Y, *et al.* Leaf CO₂ response curve and fruit medicinal components of *Lycium ruthenicum* affected by nitrogen application in the arid area[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, **40** (7): 1 209-1 218.

[18] 朱亚男, 李金霞, 刘娜, 等. 氮磷配施量对黑果枸杞叶片非结构性碳动态的影响[J]. *西北植物学报*, 2020, **40**(12): 2 093-2 100.

ZHU Y N, LI J X, LIU N, *et al.* Effect of nitrogen and phosphorus fertilizer on non-structural carbon dynamics in leaves of *Lycium ruthenicum*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, **40**(12): 2 093-2 100.

[19] GUERRA F P, RICHARDS J H, FIEHN O, *et al.* Analysis of the genetic variation in growth, ecophysiology, and chemical and metabolomic composition of wood of *Populus trichocarpa* provenances[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2016, **12** (1): 6.

[20] DU J, GERTTULA S, LI Z H, *et al.* Brassinosteroid regulation of wood formation in poplar[J]. *The New Phytologist*, 2020, **225**(4): 1 516-1 530.

[21] DIDI V, JACKSON P, HEJÁTKO J. Hormonal regulation of secondary cell wall formation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, **66**(16): 5 015-5 027.

[22] WANG Y, FAN C, HU H, *et al.* Genetic modification of plant cell walls to enhance biomass yield and biofuel production in bioenergy crops[J]. *Biotechnology Advances*, 2016, **34**(5): 997-1 017.

[23] DECOUARD B, BAILLY M, RIGAULT M, *et al.* Genotypic variation of nitrogen use efficiency and amino acid metabolism in barley[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **12**: 807 798.

(编辑:裴阿卫)