

过表达 *PsnSWEET7* 重塑碳氮代谢并促进小黑杨生长

雷学坤¹ 侯照银² 杨元植¹ 许志茹² 刘关君^{1*}

(1. 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040)

摘要 为研究 *PsnSWEET7* 在氮素响应和碳氮代谢调控中的功能, 以小黑杨 (*Populus simonii* × *P. nigra*) 为试验材料, 通过农杆菌 (*Agrobacterium*) 介导法创制过表达转基因株系, 结合亚细胞定位及不同浓度氮素 (NH_4NO_3) 处理下表型分析、生理指标测定、基因表达分析等方法, 系统探究该基因对植株生长及碳氮代谢的影响。分析显示: *PsnSWEET7* 蛋白定位于质膜; 在 NH_4NO_3 处理下, 相较于野生型, *PsnSWEET7* 过表达植株株高与地径分别显著增加 17.3% 和 17.8% ($P<0.05$); 茎部蔗糖、葡萄糖质量分数分别显著提高 20.1% 和 25.4% ($P<0.05$), 可溶性蛋白及游离氨基酸质量分数分别显著提高 9.3% 和 7.5% ($P<0.05$); 纤维素质量分数显著提高 10.5% ($P<0.05$), 木质素质量分数显著下降 12.2% ($P<0.05$)。在正常和高氮条件下, 转基因植株液泡转化酶与细胞壁转化酶活性显著提高 ($P<0.05$)。结果表明, *PsnSWEET7* 可通过调控糖转运重塑小黑杨碳氮代谢, 进而促进植株生长。研究结果为高产优质杨树分子育种提供了新的基因资源与理论依据。

关键词 小黑杨; *PsnSWEET7*; 氮素处理; 生理指标

中图分类号: S718.43 文献标志码: A doi: 10.7525/j.issn.1673-5102.2026.04.007

Overexpression of *PsnSWEET7* Remodels Carbon-Nitrogen Metabolism and Promotes Growth in *Populus simonii* × *P. nigra*

LEI Xuekun¹ HOU Zhaoyin² YANG Yuanzhi¹ XU Zhiru² LIU Guanjun^{1*}

(1. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040; 2. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040)

Abstract To investigate the function of *PsnSWEET7* in nitrogen response and regulation of carbon and nitrogen metabolism, the transgenic lines overexpressing *PsnSWEET7* were generated in *Populus simonii* × *P. nigra* via *Agrobacterium*-mediated transformation. The effects of this gene on plant growth and carbon-nitrogen metabolism were investigated by subcellular localization and phenotype analysis, as well as determinations of physiological indices and gene expression under treatments with different concentrations of ammonium nitrate (NH_4NO_3). The *PsnSWEET7* protein was localized to the plasma membrane. Under NH_4NO_3 treatments, compared with the wild type, the plant height and ground diameter of *PsnSWEET7* overexpressing plants increased by 17.3% and 17.8%, respectively ($P<0.05$); the mass fractions of sucrose, glucose, soluble protein and free amino acids in stems increased by 20.1%, 25.4%, 9.3% and 7.5%, respectively ($P<0.05$); the cellulose mass fraction increased by 10.5% ($P<0.05$), while the lignin mass fraction decreased by 12.2% ($P<0.05$). Under normal and high nitrogen conditions, the activities of vacuolar invertase and cell wall invertase were significantly elevated in transgenic plants. This study indicates that *PsnSWEET7* can remodel the carbon and nitrogen metabolism of *P. simonii* × *P. nigra* by regulating sugar transport, thereby promoting plant growth, and provides new genetic resources and theoretical basis for the molecular breeding of high-yield and high-quality poplars.

Key words *Populus simonii* × *P. nigra*; *PsnSWEET7*; nitrogen treatment; physiological indices

糖类物质是植物光合作用的主要产物, 不仅为植株生长发育提供能量和碳骨架, 还作为信号

分子参与多种生理过程的调控。在植物体内, 糖的跨膜运输依赖共质体途径, 并由特定的糖转运

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32572092)。

第一作者简介: 雷学坤 (2000—), 男, 硕士研究生, 主要从事林木遗传育种研究。

* 通信作者: E-mail: liuguanjun2013@nefu.edu.cn。

收稿日期: 2026年5月14日。

蛋白介导完成。SWEET(sugars will eventually be exported transporters)是一类近年来新发现的糖转运蛋白,具有7个跨膜螺旋结构,能够不依赖质子梯度实现糖的跨膜运输^[1]。自2010年Chen等^[2]首次在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中鉴定出SWEET蛋白以来,该家族在多种植物中的功能研究日益受到关注,尤其是在生长发育调控、逆境响应及与病原菌互作等方面取得了重要进展^[3]。

SWEET蛋白在植物碳分配过程中发挥关键作用。Le Hir等^[4]发现拟南芥*AtSWEET11*和*AtSWEET12*参与韧皮部蔗糖装载,其突变体表现出碳转运受阻和种子产量下降;Sosso等^[5]发现*OsSWEET4*介导水稻(*Oryza sativa*)籽粒中葡萄糖和果糖的转运,该基因敲除的突变体呈现胚乳缺失表型;Bezruczyk等^[6]发现玉米(*Zea mays*)*ZmSWEET13c*参与叶片维管束韧皮部装载过程,其三重突变体光合产物在源叶中大量积累,植株生长严重受限。然而,目前关于SWEET蛋白功能的研究主要集中于草本植物,在木本植物中的研究相对滞后。与草本植物不同,木本植物需要将大量光合产物长期分配给多年生茎干,用于次生长和木材形成,这一过程对碳的跨膜转运效率提出了更高要求^[7-8]。因此,SWEET蛋白在木材形成过程中的功能仍有待深入探究。

氮素作为植物生长发育所需的大量元素^[9],不仅参与氨基酸、蛋白质等含氮化合物的合成,还通过影响碳代谢途径调控植物的碳氮平衡^[10]。已有研究^[11-12]表明,氮素供应水平能够显著影响植物体内糖的积累与分配,进而调控植株生长和次生代谢过程。杨树(*Populus*)是我国北方地区重要的速生用材树种,其木材形成受碳氮代谢平衡的调控,次生细胞壁中纤维素、半纤维素和木质素的质量分数是决定木材品质的关键^[13]。SWEET蛋白作为碳转运的重要环节^[14],可能在氮素调控木材形成过程中发挥桥梁作用。然而,氮素处理通过SWEET蛋白影响杨树碳代谢及次生细胞壁组分形成的相关机制目前尚不明确。已有研究^[4-6]主要聚焦于草本植物SWEET蛋白在韧皮部装载和籽粒灌浆中的功能,而木本植物需要将光合产物长期分配给多年生茎干以完成次生长,这一过程对糖转运蛋白的碳分配效率提出了更高要求,但SWEET蛋白在氮素耦合调控该过程中的作用目前尚不明确。

基于上述背景,本研究以小黑杨(*Populus simonii*×*P. nigra*)为材料,筛选受氮素调控的*PsnSWEET7*基因,通过遗传转化获得过量表达植株,结合不同浓度氮素处理,系统分析转基因植株在生长、碳氮代谢、关键酶活性及细胞壁组分等方面的变化,本研究重点探究不同氮素水平下*PsnSWEET7*的表达特征,过表达该基因对小黑杨生长、碳代谢产物的积累与分配的影响,以及该基因通过影响氮同化过程重塑碳氮代谢及次生细胞壁组分,以揭示*PsnSWEET7*在氮素响应中的生物学功能,并为阐明其调控碳氮代谢促进小黑杨生长的分子机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料及处理方法

野生型小黑杨和本氏烟草(*Nicotiana benthamiana*)由林木遗传育种全国重点实验室(东北林业大学)提供。培养条件为温度25℃,光周期16 h光照/8 h黑暗,光合有效辐射为400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。氮素处理条件:将生长30 d的野生型与*PsnSWEET7*过表达株系的组培苗同步移栽至水培盒(规格为60.5 cm×10.5 cm×16.0 cm)中水培7 d,改用含有1.0 mmol·L⁻¹ NH₄NO₃的LA营养液预培养21 d,之后分别改用含有0.15 mmol·L⁻¹(低氮)、1.00 mmol·L⁻¹(正常氮)和5.00 mmol·L⁻¹(高氮)NH₄NO₃的LA营养液处理28 d,以预培养组为正常氮对照^[15]。不同氮素处理仅调整NH₄NO₃浓度,通过添加分析纯氯化钠维持所有处理的总离子强度一致。每个氮素处理设置3个生物学重复,每个生物学重复中,每个株系各设置3株植株。

1.2 试剂、菌株及仪器

本研究所使用的荧光定量试剂盒购自江苏康为世纪生物科技股份有限公司;反转录试剂盒、限制性内切酶及T₄ DNA Ligase购自北京宝日医生物技术有限公司;DNA凝胶回收试剂盒、质粒DNA提取试剂盒及大肠杆菌(*Escherichia coli*)DH5 α 感受态细胞购自北京擎科生物科技股份有限公司;KOD高保真聚合酶购自上海东洋纺生物科技有限公司;无缝克隆试剂盒购自Biosharp公司;铵态氮质量分数测定试剂盒购自兰杰柯科技有限公司;谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)和谷氨酸合成酶(glutamine: 2-oxoglutarate aminotransferase, GOGAT)活性测定试剂盒购自莱尔生物科技

有限公司;细胞壁不溶性酸性转化酶(cell wall insoluble acid invertase, CWINV)、中性转化酶(neutral invertase, NINV)及液泡转化酶(vacuolar invertase, VINV)活性测定试剂盒购自格锐思生物科技有限公司。根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*) EHA105 感受态细胞购自上海唯地生物技术股份有限公司。pBI121-35S-eGFP、pBI121-35S-eGFP-PM、pROK II -35S 载体由林木遗传育种国家重点实验室(东北林业大学)提供, TOPO-Blunt 载体购自上海翌圣生物科技股份有限公司。激光共聚焦显微镜 LSM900 由德国蔡司公司生产。

1.3 *PsnSWEET7* 基因 CDS 序列扩增

以小黑杨 cDNA 为模板,根据毛果杨(*P. trichocarpa*) *PtSWEET7* 的 CDS 序列设计特异性引物(*PsnSWEET7*-F: ATGTTTCTGCAGACCTTGTTA; *PsnSWEET7*-R: TCAGCCCTCTGATCCATG),利用 RT-PCR 技术克隆 *PsnSWEET7* 基因全长 CDS 序列。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后回收目的条带,连接 TOPO-Blunt 载体,转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,筛选阳性克隆测序验证。

1.4 亚细胞定位

构建 pBI121-35S-eGFP-*PsnSWEET7* 融合表达载体。利用带有 *Xba* I 酶切位点的同源臂引物(*PsnSWEET7*-F: GGAGAGAACACGGGGGACTCTA GAATGGTTTCTGCAGACCTTGTTAGAACTG; *PsnSWEET7*-R: CTCGCCCTTGCTCACCATTCTAGAGC CCTCTGATCCATGGCCATT)进行 PCR 扩增。回收目的片段,将目的片段与经 *Xba* I 酶切线性化的 pBI121-35S-eGFP 载体进行同源重组,转化大肠杆菌 DH5 α , 筛选阳性克隆测序验证。将重组质粒电击转化农杆菌 EHA105 感受态细胞,瞬时转化本氏烟草叶片,暗培养 48 h 后,利用激光共聚焦显微镜观察 GFP 荧光信号。GFP 荧光以 488 nm 激光激发,收集 500~550 nm 的发射荧光;DAPI 荧光以 405 nm 激光激发,收集 410~500 nm 的发射荧光。为验证质膜定位,同时以定位于质膜的 eGFP-PM 作为阳性对照,以游离 eGFP 作为阴性对照。

1.5 过表达载体构建与遗传转化

以 pROK II 载体为骨架,构建 35S 启动子驱动的过表达载体 pROK II -35S-*PsnSWEET7*。设计带 *Xba* I 和 *Kpn* I 酶切位点的特异性引物(*PsnSWEET7*-F: GCTCTAGAATGGTTTCTGCAGACCTT

GTTAGAACTG; *PsnSWEET7*-R: GGGGTACCTCAC TTGTCATCGTCATCCTTGACTCGATGTCATGAT CTTTATAATCACCGTCATGGTCTTTGTAGTCGCC CTCTGATCCATGGCCATT),以测序完全正确的 TOPO-Blunt-*PsnSWEET7* 质粒为模板进行 PCR 扩增。回收目的片段,与经 *Xba* I 和 *Kpn* I 双酶切的 pROK II -35S 载体连接,转化大肠杆菌 DH5 α , 筛选阳性克隆测序验证。

将重组质粒 pROK II -35S-*PsnSWEET7* 电击转化农杆菌 EHA105 感受态细胞,通过叶盘法遗传转化小黑杨。取小黑杨无菌苗叶片(1 cm $\times$ 1 cm),置于 OD₆₀₀ 为 0.8 的农杆菌菌液中,28 $^{\circ}$ C、100 r $\cdot$ min⁻¹ 振荡 20 min,吸干菌液后置于共培养培养基上,25 $^{\circ}$ C 暗培养 48 h 后转移至筛选分化培养基培养 40 d,每 12 d 更换一次培养基。筛选培养基抗生素质量浓度为头孢霉素(300 mg $\cdot$ L⁻¹)、卡那霉素(30 mg $\cdot$ L⁻¹)、特美汀(300 mg $\cdot$ L⁻¹)。将抗性芽剪下,置于筛选抽茎培养基中继代培养,待芽长至 4 cm 左右时转入筛选生根培养基中生根培养。

1.6 转基因植株分子鉴定

提取抗性植株及野生型植株总 RNA,反转录为 cDNA,通过 RT-qPCR 检测 *PsnSWEET7* 相对表达量。RT-qPCR 引物跨内含子设计,引物为 *PsnSWEET7*-F: TGCCAATAGTGTTCCTGGT, *PsnSWEET7*-R: ATAAGCCCACGTCACCCTTG。内参基因为 *PtUBQ7*,采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法处理 RT-qPCR 数据。

1.7 生理生化指标测定

野生型小黑杨和各过量表达株系(OE7-1、OE7-2)经 0.15、1.00、5.00 mmol $\cdot$ L⁻¹ NH₄NO₃ 分别处理 28 d 后,每个株系在每个氮浓度处理下各取 3 株植株用于各项生理生化指标的测定($n=3$)。使用直尺(精度为 0.1 cm)测量株高,电子游标卡尺(精度为 0.01 cm)测量地径。葡萄糖质量分数采用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法测定,葡萄糖在葡萄糖氧化酶作用下生成 H₂O₂,后者与 4-氨基安替比林和酚反应生成红色醌亚胺类染料,于 505 nm 处测定吸光度;蔗糖和果糖质量分数均采用间苯二酚法测定,蔗糖在碱性条件下与间苯二酚反应生成有色衍生物,果糖在盐酸介质中与间苯二酚反应生成红色物质,均于 480 nm 处测定吸光度;还原糖质量分数采用 3,5-二硝基水杨酸法测定,还原糖与 3,5-二硝基水杨酸共热生成棕红色的 3-氨基-5-硝基水杨酸,于 540 nm 处测定吸光度;可溶性糖和

淀粉质量分数采用蒽酮比色法测定,糖类与蒽酮-硫酸反应生成蓝绿色糠醛衍生物,于620 nm处测定吸光度^[16]。纤维素质量分数采用蒽酮比色法测定,样品经乙醇、丙酮洗涤后以浓硫酸水解为葡萄糖,再与蒽酮试剂显色生成糠醛衍生物,于620 nm处测定吸光度^[17];木质素质量分数采用乙酰溴法测定,木质素乙酰溴衍生物于280 nm处有特征吸收峰,直接测定吸光度^[18];可溶性蛋白质质量分数采用考马斯亮蓝法测定,染料与蛋白质中的碱性氨基酸和芳香族氨基酸结合生成蓝色复合物,于595 nm处测定吸光度^[19];游离氨基酸质量分数采用茚三酮比色法测定,氨基酸与茚三酮水合反应生成蓝紫色化合物,于570 nm处测定吸光度^[20]。铵态氮质量分数及各类酶活性参照试剂盒说明书测定。

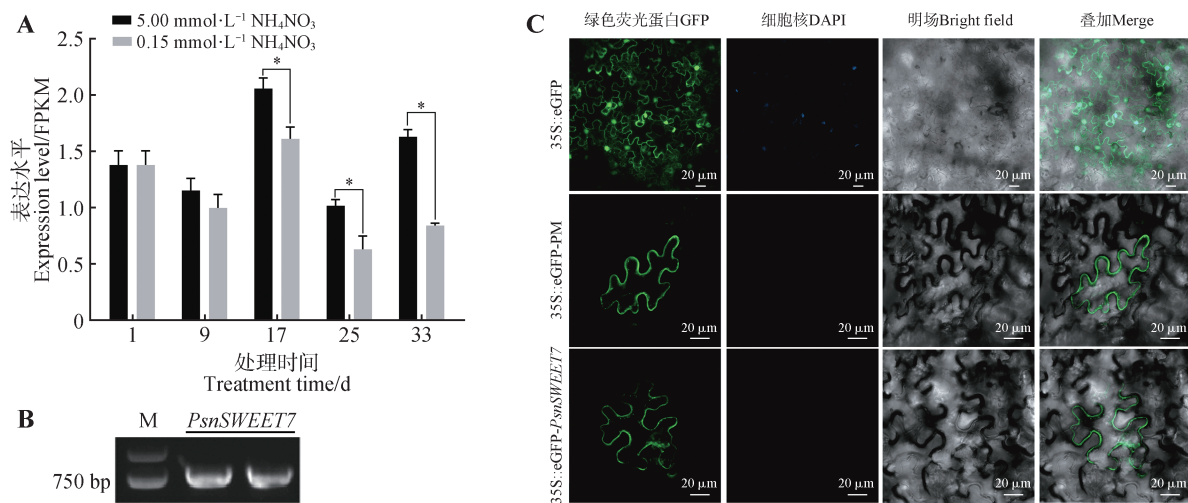
1.8 数据处理

采用SPSS26软件进行单因素方差分析与独立样本 t 检验,并基于方差分析结果开展Duncan多重比较;使用GraphPad Prism 10软件绘制图表,数据以3次生物学重复的平均值 $\pm$ 标准误表示,独立样本 t 检验结果中*代表 $P<0.05$,方差分析结果中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 *PsnSWEET7*基因的克隆、表达模式及亚细胞定位分析

为明确*PsnSWEET7*在氮素处理下的响应模式,分析了其在不同氮处理时期的转录组表达数据。该转录组数据来源于前期独立筛选试验,设置了高氮($5.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)与低氮($0.15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理,且在不同时期(1、9、17、25、33 d)进行了取样测序。结果表明,氮素处理17 d后,*PsnSWEET7*在高氮与低氮处理间的表达量存在显著差异(图1A)。为验证其功能,以小黑杨cDNA为模板,通过RT-PCR技术扩增*PsnSWEET7*编码序列。琼脂糖凝胶电泳结果显示,获得了大小约为780 bp的单一目的条带,与预期大小一致(图1B),表明已成功克隆该基因。为探究*PsnSWEET7*蛋白的亚细胞定位,构建了pBI121-35S-eGFP-*PsnSWEET7*重组载体并瞬时转化烟草叶片。激光共聚焦显微镜观察结果显示,eGFP的绿色荧光信号分布于整个细胞,而eGFP-*PsnSWEET7*融合蛋白的荧光信号则清晰地定位于质膜上(图1C),表明*PsnSWEET7*蛋白为质膜定位蛋白。



A. 氮素处理后野生型小黑杨茎部*PsnSWEET7*表达特性; B. *PsnSWEET7* RT-PCR扩增结果, M表示DL2000 DNA分子质量标准物; C. eGFP融合蛋白在本氏烟草叶表皮细胞中的亚细胞定位。35S::eGFP表示游离eGFP; 35S::eGFP-PM表示靶向质膜的eGFP; 35S::eGFP-*PsnSWEET7*表示eGFP与*PsnSWEET7*融合蛋白。*表示在 $P<0.05$ 条件下不同处理之间存在显著差异。

A. Expression patterns of the *PsnSWEET7* gene in stems of wild-type *Populus simonii* × *P. nigra* under nitrogen treatment; B. RT-PCR amplification of the *PsnSWEET7* gene; M. DL2000 DNA marker; C. Subcellular localization of eGFP fusion proteins in *Nicotiana benthamiana* leaf epidermal cells. 35S::eGFP. Free eGFP; 35S::eGFP-PM. eGFP targeted to the plasma membrane; 35S::eGFP-*PsnSWEET7*. eGFP fused to *PsnSWEET7*. Asterisks indicated significant differences between treatments ($P<0.05$).

图1 *PsnSWEET7*基因的克隆与*PsnSWEET7*融合蛋白亚细胞定位

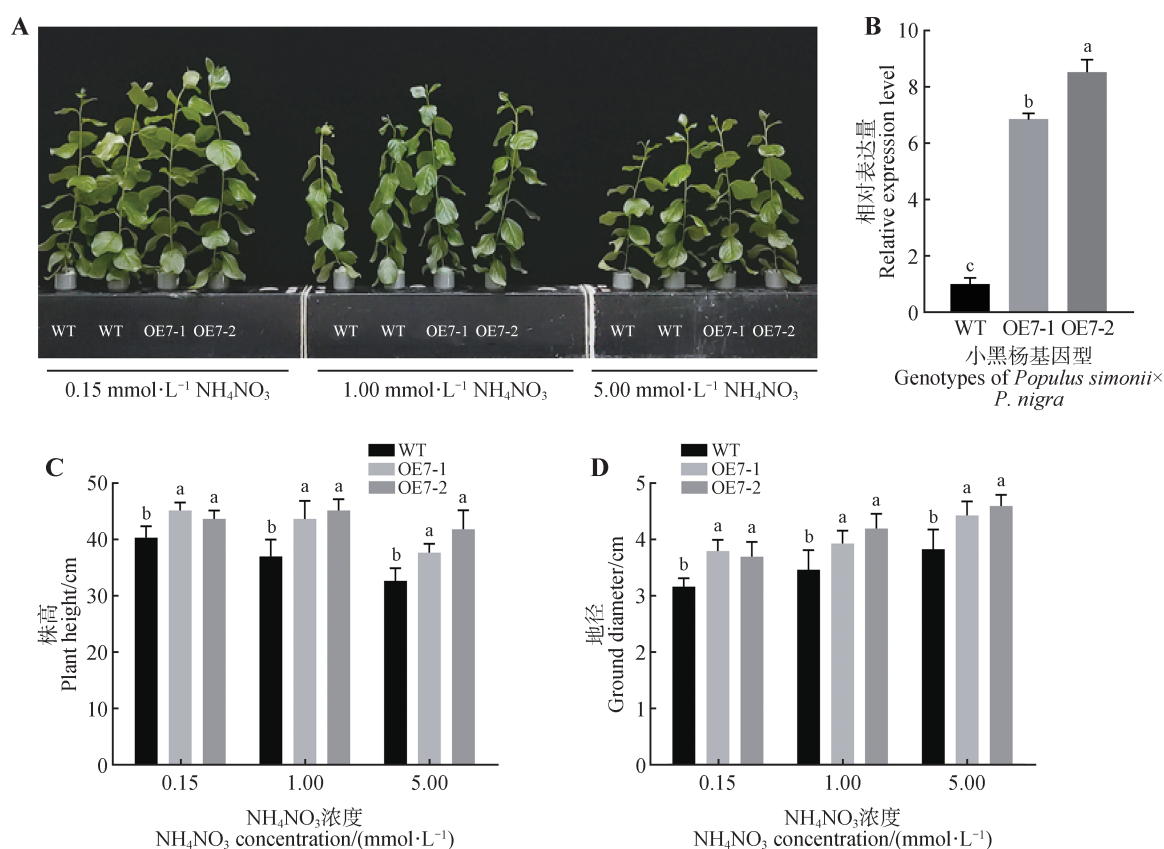
Fig.1 Cloning of the *PsnSWEET7* gene and subcellular localization of the fusion protein

2.2 *PsnSWEET7* 过表达株系的鉴定与表型分析

为探究 *PsnSWEET7* 生物学功能,构建了其过表达转基因株系。通过 qRT-PCR 技术对转基因抗性植株进行表达水平鉴定,结果表明,2 个过表达株系(OE7-1、OE7-2)中 *PsnSWEET7* 表达水平均显著高于野生型(图 2B),表明转基因株系已成功获得。

在不同浓度氮素处理下,对野生型及转基因

株系的生长表型进行系统分析。结果显示,与野生型相比,过表达 *PsnSWEET7* 的 2 个株系在低氮($0.15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、正常氮($1.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)和高氮($5.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)条件下均表现出更为显著的生长优势(图 2A)。生长数据分析表明,在 3 种氮素处理下,过表达株系的株高(图 2C)和地径(图 2D)均显著高于野生型植株($P < 0.05$),表明过表达 *PsnSWEET7* 可有效促进小黑杨的生长发育。



A. 不同浓度氮素处理下各株系的表型; B. 不同株系中 *PsnSWEET7* 表达水平; C. 不同氮素处理下各株系株高; D. 不同氮素处理下各株系地径。WT. 野生型; OE7-1、OE7-2. *PsnSWEET7* 过量表达株系(下同)。不同小写字母表示相同氮处理条件下不同株系间差异显著($P < 0.05$)。

A. Phenotypes of each line under different nitrogen concentrations; B. Expression level of the *PsnSWEET7* gene in different lines; C. Plant height of each line under different treatments; D. Ground diameter of each line under different treatments. WT. Wild-type; OE7-1, OE7-2. *PsnSWEET7* overexpression lines (the same below). Different lowercase letters indicated significant differences among different lines under the same nitrogen treatment ($P < 0.05$).

图2 *PsnSWEET7* 过表达株系的鉴定与表型分析

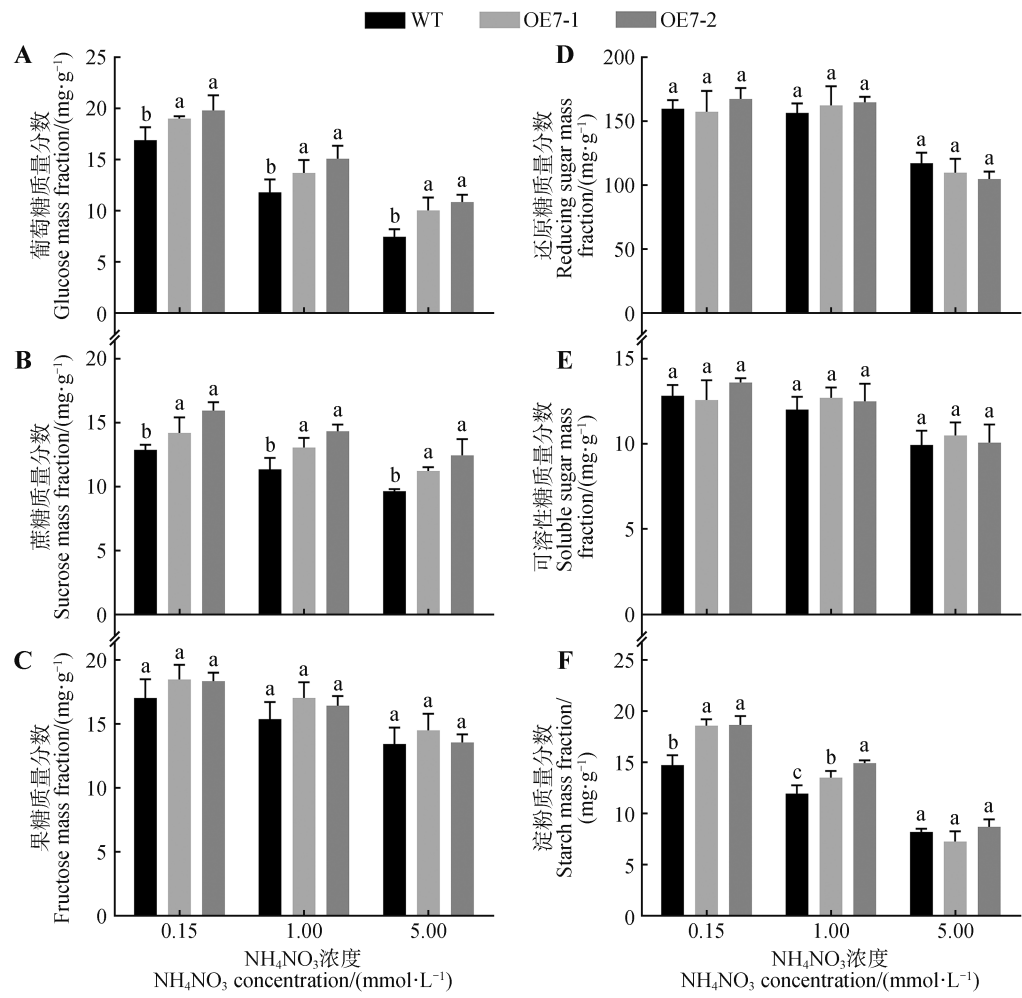
Fig.2 Identification and phenotypic analysis of *PsnSWEET7* overexpression lines

2.3 *PsnSWEET7* 过表达对小黑杨茎部碳水化合物积累及细胞壁组分的影响

非结构性碳水化合物是植物生长代谢的关键能量来源,为探究 *PsnSWEET7* 过表达对小黑杨碳水化合物积累的影响,测定不同氮素条件下野生型和转基因株系茎部的非结构性碳水化合物

(NSC)质量分数。结果表明,在 3 种氮素处理下, *PsnSWEET7* 过表达株系的葡萄糖(图 3A)和蔗糖(图 3B)质量分数均显著高于野生型。此外,在低氮和正常氮处理下,转基因株系显著积累了更多的淀粉,但在高氮条件下淀粉积累水平与野生型无显著差异(图 3F)。果糖(图 3C)、还原糖(图 3D)

及可溶性糖(图3E)的质量分数在各株系间未表现出显著差异。结果表明,*PsnSWEET7*在调控小黑杨糖类物质在茎部的积累与分配中发挥重要作用,尤其影响了葡萄糖、蔗糖和淀粉的质量分数。



A. 葡萄糖质量分数; B. 蔗糖质量分数; C. 果糖质量分数; D. 还原糖质量分数; E. 可溶性糖质量分数; F. 淀粉质量分数。不同小写字母表示相同氮处理条件下不同株系间差异显著 ($P<0.05$)。
A. Glucose mass fraction; B. Sucrose mass fraction; C. Fructose mass fraction; D. Reducing sugar mass fraction; E. Soluble sugar mass fraction; F. Starch mass fraction. Different lowercase letters indicated significant differences among different lines under the same nitrogen treatment ($P<0.05$).

图3 不同氮素处理下各株系茎部非结构性碳水化合物质量分数

Fig.3 Non-structural carbohydrate mass fraction in the stems of different lines under various nitrogen treatments

纤维素与木质素是决定木材品质的关键细胞壁组分,为阐明*PsnSWEET7*对细胞壁合成的调控作用,测定了各株系茎部的纤维素和木质素质量分数。结果表明,与野生型相比,过表达*PsnSWEET7*显著提升了植株茎部纤维素质量分数(图4A),同时显著降低了木质素的积累(图4B)。该结果揭示,*PsnSWEET7*可能通过影响碳源分配,调控纤维素与木质素的合成代谢,进而影响木材的化学成分。

2.4 *PsnSWEET7*过表达对小黑杨茎部含氮化合物的影响

氮素的吸收与同化是调控植物生长的核心生

理过程,为探究*PsnSWEET7*在氮素代谢中的作用,本研究测定了不同氮素条件下各株系茎部的关键含氮化合物质量分数。结果表明,在3种氮素处理下,过表达*PsnSWEET7*株系的游离氨基酸(图5A)和可溶性蛋白(图5B)质量分数均显著高于野生型,而铵态氮质量分数在各株系间无显著差异(图5C)。这些结果表明,过表达*PsnSWEET7*能够显著增强小黑杨的氮素同化能力。

2.5 *PsnSWEET7*过表达对小黑杨茎部糖代谢及氮同化关键酶活性的影响

碳氮代谢与植物生长密切相关,为探究*PsnSWEET7*

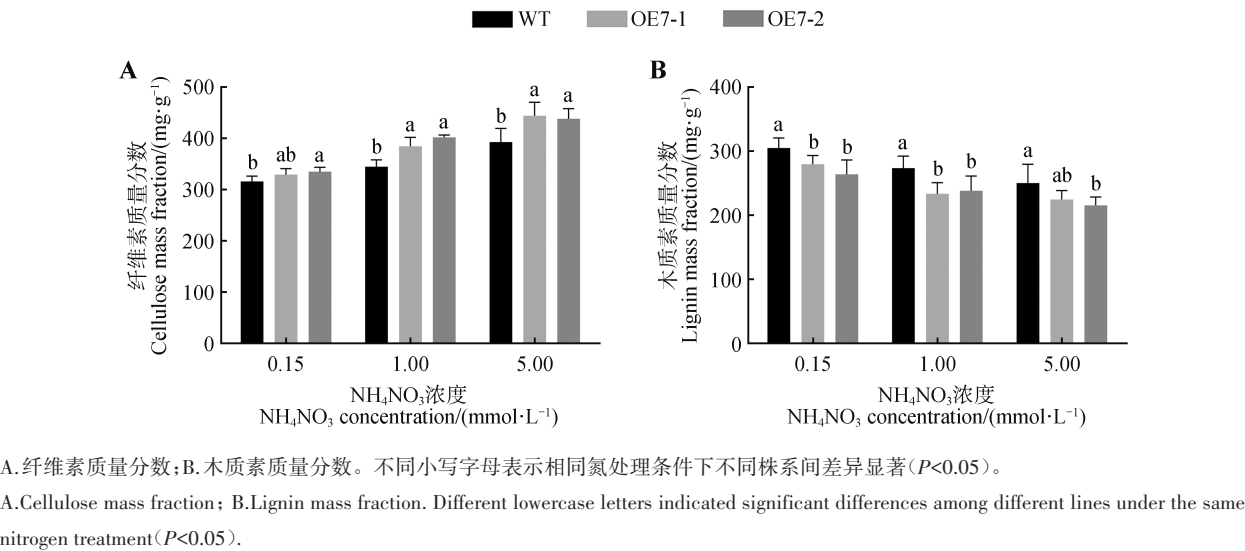


图4 不同氮素处理下各株系茎部纤维素和木质素质量分数
Fig.4 Cellulose and lignin mass fraction in the stems of different lines under nitrogen treatments

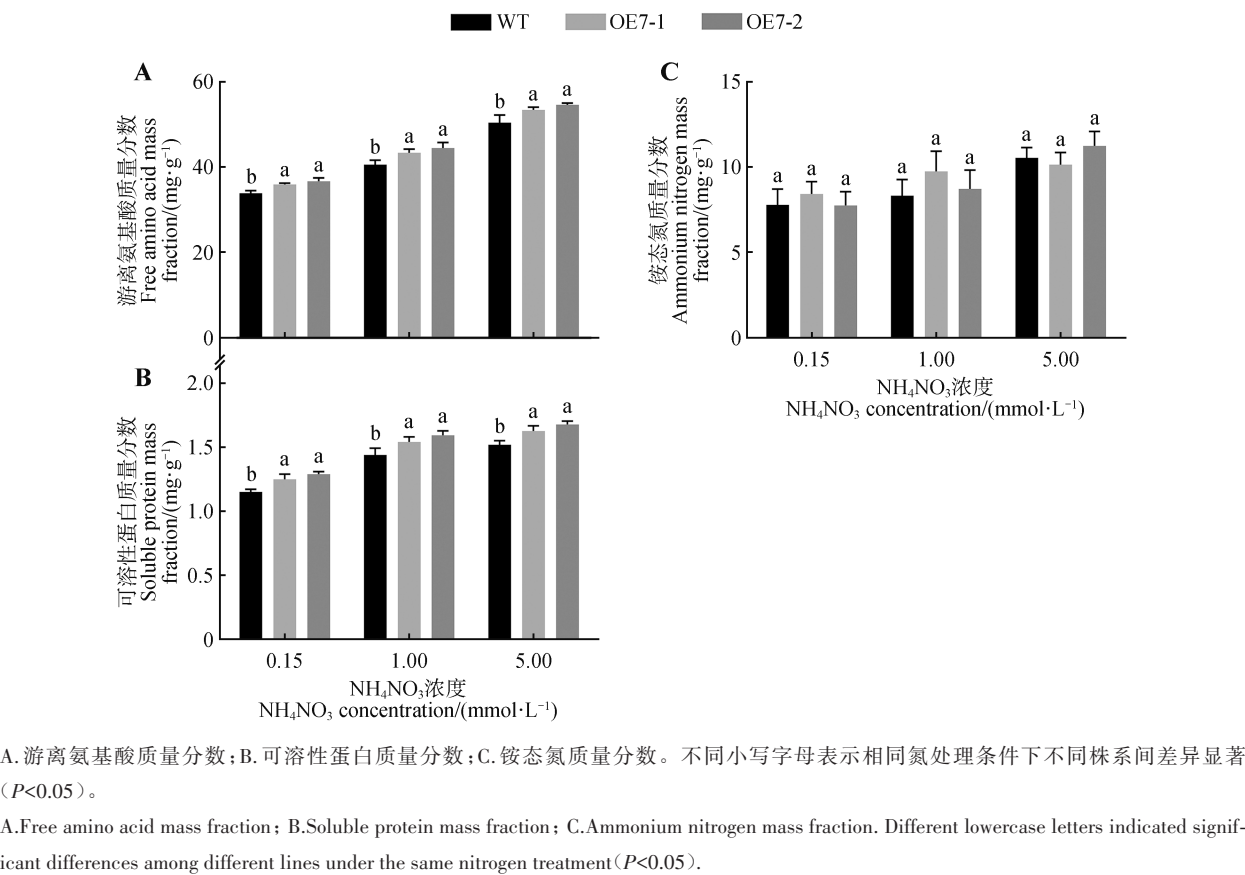
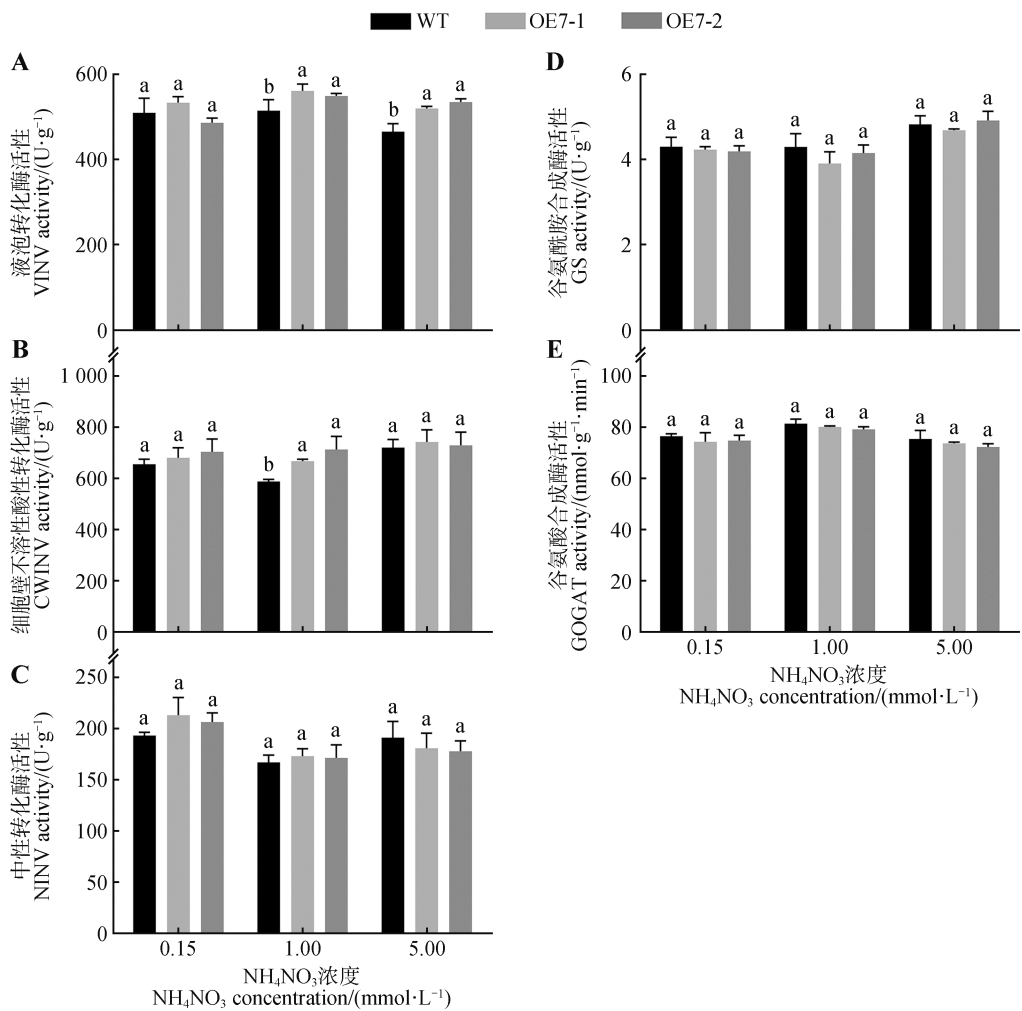


图5 不同氮素处理下各株系茎部含氮化合物质量分数
Fig.5 Nitrogen compound mass fraction in the stems of different lines under nitrogen treatments

*SWEET7*在碳氮代谢调控中的作用,本研究测定了低氮、正常氮和高氮处理条件下野生型及 *Psn-SWEET7*过表达植株茎部的液泡转化酶(VINV)、细胞壁转化酶(CWINV)、中性转化酶(NINV)及谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸合成酶(GOGAT)活性。结果表明,在正常氮处理条件下, *PsnSWEET7*过表达植株中VINV和CWINV的活性均显著高于野生型(图6A、6B);在高氮处理条件下, *Psn-*

SWEET7 过表达植株中 VINV 的活性亦显著高于野生型。在 3 种氮素处理条件下, *PsnSWEET7* 过表达植株与野生型在 GS、GOGAT 及 NINV 活性方面均无显著差异(图 6C~6E)。



A. 液泡转化酶活性; B. 细胞壁不溶性酸性转化酶活性; C. 中性转化酶活性; D. 谷氨酰胺合成酶活性; E. 谷氨酸合成酶活性。不同小写字母表示相同氮处理条件下不同株系间差异显著 ($P < 0.05$)。

A. VINV activity; B. CWINV activity; C. NINV activity; D. GS activity; E. GOGAT activity. Different lowercase letters indicated significant differences among different lines under the same nitrogen treatment ($P < 0.05$).

图 6 不同氮素处理下各株系茎部 GS、GOGAT 及转化酶活性

Fig.6 Activities of GS, GOGAT, and invertases in the stems of different lines under nitrogen treatments

3 讨论

糖转运蛋白在植物碳分配与生长发育中发挥重要作用^[21]。本研究克隆了受氮素调控的糖转运蛋白基因 *PsnSWEET7*, 并获得了其过表达转基因株系。通过不同浓度氮素处理, 分析了过表达 *PsnSWEET7* 对小黑杨生长、碳氮代谢及细胞壁组分的影响。结果表明, 过表达 *PsnSWEET7* 在不同氮素条件下均能显著促进株高和地径生长, 提高茎部蔗糖、葡萄糖、可溶性蛋白及游离氨基酸质量分数, 并改变纤维素与木质素的合成模式。

亚细胞定位结果显示, *PsnSWEET7* 蛋白定位于质膜, 这与其作为跨膜糖转运蛋白的功能一致^[1]。过表达株系茎部蔗糖和葡萄糖质量分数显著升高, 而果糖、还原糖及可溶性糖总量与野生型相比未发生显著变化(图 3)。这种选择性的糖积累现象与转运蛋白的底物偏好性有关, *Psn-SWEET7* 可能主要参与蔗糖和葡萄糖的转运, 而对果糖的转运能力有限^[22], 且果糖作为蔗糖分解的关键中间产物, 其胞内稳态受转化酶、果糖激酶等多种酶的快速协同调控, 转运增强带来的少量果

糖增量可能被迅速的代谢周转所抵消^[23];而还原糖及可溶性糖总量包含多种组分,不同组分的变化趋势可能相互抵消,最终导致总量无显著差异。此外,在低氮和正常氮处理下,过表达株系茎部淀粉质量分数显著高于野生型;而在高氮条件下,二者无显著差异。这提示高氮条件可能通过促进蔗糖向纤维素等结构性碳水化合物的转化、加速淀粉降解的方式,削弱 *PsnSWEET7* 对淀粉积累的促进作用。

蔗糖分解与己糖再生是碳分配的关键环节,转化酶在此过程中起重要调控作用^[24]。在正常氮和高氮处理下, *PsnSWEET7* 过表达株系中 *CWINV* 和 *VINV* 活性显著升高。*CWINV* 和 *VINV* 分别参与质外体蔗糖的分解及液泡中蔗糖的再利用,其活性增强可直接促进蔗糖向己糖转化^[25-26],这与过表达株系中葡萄糖质量分数升高的结果一致。然而二者之间的因果关系尚不明确,可能是位于糖代谢上游的转化酶活性增强直接促进蔗糖分解为己糖,也可能是己糖积累反馈上调转化酶活性^[27],未来可通过转化酶特异性抑制剂明确这2种机制的主次关系。

碳代谢与氮代谢密切联系,糖提供的碳骨架直接影响氮同化产物的合成效率^[28]。本研究发现, *PsnSWEET7* 过表达株系茎部游离氨基酸、可溶性蛋白质质量分数显著高于野生型,而铵态氮质量分数无显著差异,提示该基因可能通过增强碳骨架供给间接促进氮同化产物的积累^[29]。*GS*、*GOGAT* 是氮同化核心酶^[30],其活性在转基因株系与野生型间无显著差异,提示 *PsnSWEET7* 可能不直接调控氮同化酶活性,而是通过优化碳源分配,促进氮同化产物合成^[31]。本研究重点关注 *PsnSWEET7* 对氮同化核心过程的影响,故仅测定了铵态氮含量,未测定硝态氮含量及总氮含量,因此尚不能排除 *PsnSWEET7* 对硝态氮吸收或总氮积累的潜在影响,后续需通过同位素示踪试验进一步验证。但结合铵态氮含量及 *GS*、*GOGAT* 活性在转基因株系与野生型间均无显著差异的结果可推测, *PsnSWEET7* 可能并不直接调控氮素的吸收与还原。值得注意的是,拟南芥 *AtSWEET11/12* 主要参与叶片韧皮部蔗糖装载过程,水稻 *OsSWEET4* 调控籽粒胚乳灌浆,这些草本植物 *SWEET* 蛋白主要介导光合产物向生殖器官的瞬时碳分配^[4-5]。与之不同, *PsnSWEET7* 表达受氮素水平调控,并通过重

塑碳代谢响应氮信号,这一特征揭示了木本植物中 *SWEET* 蛋白独特的氮响应机制。

细胞壁组分是林木碳分配与木材品质的核心指标^[32],与草本植物将碳优先分配至籽粒等生殖器官不同^[4-6],小黑杨 *PsnSWEET7* 过表达不仅促进了茎部糖积累,还显著重塑了纤维素与木质素的合成平衡,这反映了木本植物将光合产物长期分配至茎干以完成次生生长的生物学特性^[33]。毛白杨 (*P. tomentosa*) 中 *PtoSWEET17b* 是调控木质部正常发育的重要基因,敲除该基因将显著降低植株体内纤维素与半纤维素的含量^[34]。本研究中,过表达 *PsnSWEET7* 显著提高了茎部纤维素质量分数,同时降低了木质素质量分数,表明该基因可能通过调控碳流分配方向影响次生细胞壁组分合成^[35]。过表达株系中蔗糖和葡萄糖的积累可能为纤维素合成提供充足底物,而木质素质量分数的降低可能反映了碳流从苯丙烷代谢途径向纤维素合成的重新分配。这一碳流重分配的过程可能涉及3个方面,一是蔗糖和葡萄糖可直接作为底物促进纤维素合成,二是糖信号可能抑制苯丙烷代谢途径关键酶活性以减少木质素前体合成,三是该过程可能受转录因子的调控,如茶树 (*Camellia sinensis*) *CsWRKY57L*^[36]、棉花 (*Gossypium hirsutum*) *GhMYB44/bHLH3*^[37] 均通过调控 *SWEET* 基因表达参与碳分配过程。此外,木质素质量分数在不同氮浓度处理间差异未达显著水平,这一现象可能源于2个方面原因,一是过表达 *PsnSWEET7* 对细胞壁组分的调控效应强于氮素浓度的效应,二是本研究采用的小黑杨幼苗处于生长早期,尚未进入快速次生木质化的关键时期^[38]。

需要指出的是,本研究仍存在一些有待完善之处。第一,生理生化指标以整段茎部为材料,未区分韧皮部与木质部,后续可采用激光显微切割技术解析糖的空间分布特征。第二,未开展异源表达体系验证 *PsnSWEET7* 蛋白的底物特异性,后续应通过酵母摄取试验明确其糖转运偏好性。第三,碳骨架供给增强这一推断目前尚缺乏直接证据,后续需通过¹⁴C标记试验分析予以验证。

综上所述,小黑杨 *PsnSWEET7* 蛋白作为质膜定位的糖转运蛋白,通过重塑碳氮代谢,促进茎部糖积累,增强氮同化能力,并改变纤维素与木质素的合成平衡,最终促进植株在氮素处理下的生长。

4 结论

小黑杨 PsnSWEET7 蛋白定位于质膜。其过表达在不同氮素处理下显著促进植株生长,同时提高了茎部蔗糖、葡萄糖、可溶性蛋白和游离氨基酸质量分数,并增强了细胞壁转化酶及液泡转化酶活性。此外,过表达 PsnSWEET7 提高了纤维素质量分数而降低了木质素质量分数,表明该基因可重塑碳氮代谢并改变次生细胞壁组分的合成平衡。

参 考 文 献

- [1] Yang Q, Wang G Z, Dou J H, *et al.* Plant sugar transporters SWEETs: structure, function, and cutting-edge research insights[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(30):18457-18479.
- [2] Chen L Q, Hou B H, Lalonde S, *et al.* Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens[J]. Nature, 2010, 468(7323):527-532.
- [3] Liu W G, Jiang H, Zeng F K. The sugar transporter proteins in plants: an elaborate and widespread regulation network-a review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 294:139252.
- [4] Le Hir R, Spinner L, Klemens P A W, *et al.* Disruption of the sugar transporters AtSWEET11 and AtSWEET12 affects vascular development and freezing tolerance in *Arabidopsis*[J]. Molecular Plant, 2015, 8(11):1687-1690.
- [5] Sosso D, Luo D P, Li Q B, *et al.* Seed filling in domesticated maize and rice depends on SWEET-mediated hexose transport[J]. Nature Genetics, 2015, 47(12):1489-1493.
- [6] Bezrutczyk M, Hartwig T, Horschman M, *et al.* Impaired phloem loading in *zmsweet13a,b,c* sucrose transporter triple knock-out mutants in *Zea mays*[J]. New Phytologist, 2018, 218(2):594-603.
- [7] Zhang L, Wang L J, Zhang J, *et al.* Expression and localization of SWEETs in *Populus* and the effect of SWEET7 overexpression in secondary growth[J]. Tree Physiology, 2021, 41(5):882-899.
- [8] Zhang S, Yang Y Z, Chang R H, *et al.* PtrCWINV3 encoding a cell wall invertase regulates carbon flow to wood in *Populus trichocarpa*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 311:143891.
- [9] Cao L N, Zhang S, Cao J Y, *et al.* Nitrogen modifies wood composition in poplar seedlings by regulating carbon and nitrogen metabolism[J]. Industrial Crops and Products, 2024, 219:119118.
- [10] Fañanás-Pueyo I, Carrera-Castaño G, Pernas M, *et al.* Signalling and regulation of plant development by carbon/nitrogen balance[J]. Physiologia Plantarum, 2025, 177(2):e70228.
- [11] Wang X Y, Lu D L, Schönbeck L, *et al.* Contrasting effects of prolonged drought and nitrogen addition on growth and non-structural carbohydrate dynamics in co-existing *Pinus koraiensis* and *Fraxinus mandshurica* saplings[J]. Forestry Research, 2025, 5:e003.
- [12] Mou R, Jian Y, Zhou D J, *et al.* Divergent responses of woody plant leaf and root non-structural carbohydrates to nitrogen addition in China: seasonal variations and ecological implications[J]. Science of The Total Environment, 2024, 950:175425.
- [13] Huang C Z, Qin Q, Liu Y B, *et al.* Physicochemical, polymeric and microbial modifications of wood toward advanced functional applications: a review[J]. Chemical Society Reviews, 2025, 54(19):9027-9091.
- [14] Wang Y, Xu G X, Yan S X, *et al.* Overexpression of *Pag-MYB206* enhances secondary cell wall biosynthesis under low nitrogen availability in poplar[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2025, 222:109720.
- [15] 曹佳玉. 小黑杨 *PxGNL* 基因的功能研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2024:9-12.
Cao Jiayu. Study on the function of *PxGNL* gene in *Populus xiaohei* T.S. Hwang et Liang[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2024:9-12.
- [16] 曹丽娜. 氮素调控小黑杨木材组分变化的机制及 *Px-AspAT6* 和 *PxPAL2* 的功能解析[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2024:15-22.
Cao Lina. The mechanism of nitrogen regulation on wood component changes and the functional analysis of *PxAspAT6* and *PxPAL2* in *Populus x xiaohei* T.S. Hwang et Liang[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2024:15-22.
- [17] Niemi C, Takahashi J, Gorzsás A, *et al.* Quantitative and qualitative saccharide analysis of North Atlantic brown seaweed by gas chromatography/mass spectrometry and infrared spectroscopy[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 254:127870.
- [18] 魏晨光, 孙静雯, 李子逸, 等. 乙酰溴法测定浑河草本植物中木质素的质量分数[J]. 辽宁化工, 2023, 52(11):1706-1709.
Wei Chenguang, Sun Jingwen, Li Ziyi, *et al.* Determination of lignin in Hunhe herbaceous plants by acetyl bromide method[J]. Liaoning Chemical Industry, 2023, 52(11):1706-1709.
- [19] 刘金铭, 李丽, 王培, 等. 考马斯亮蓝法测定蛋白质含量的优化[J]. 河北科技大学学报, 2025, 46(5):553-560.

- Liu Jinming, Li Li, Wang Pei, *et al.* Optimization of Coomassie Brilliant Blue method for determination of protein content [J]. Journal of Hebei University of Science and Technology, 2025, 46(5): 553-560.
- [20] 温秀萍, 于虹敏, 蔡沓栗, 等. 基于茚三酮比色法测定闽产细叶石仙桃总氨基酸含量[J]. 蚌埠医学院学报, 2024, 49(2): 238-243.
- Wen Xiuping, Yu Hongmin, Cai Dali, *et al.* Detection of total amino acids of *Pholidota cantonensis* Rolfe. from Fujian Province by ninhydrin colorimetric method [J]. Journal of Bengbu Medical College, 2024, 49(2): 238-243.
- [21] Aubry E, Clément G, Gilbault E, *et al.* Changes in SWEET-mediated sugar partitioning affect photosynthesis performance and plant response to drought [J]. Physiologia Plantarum, 2024, 176(6): e14623.
- [22] Jiang S Y, Chi Y H, Wang J Z, *et al.* Sucrose metabolism gene families and their biological functions [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 17583.
- [23] Guo W J, Nagy R, Chen H Y, *et al.* SWEET17, a facilitative transporter, mediates fructose transport across the tonoplast of *Arabidopsis* roots and leaves [J]. Plant Physiology, 2014, 164(2): 777-789.
- [24] Liu H, Gao X H, Fan W S, *et al.* Optimizing carbon and nitrogen metabolism in plants: from fundamental principles to practical applications [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2025, 67(6): 1447-1466.
- [25] Li S, Tian Y H, Wu K, *et al.* Modulating plant growth-metabolism coordination for sustainable agriculture [J]. Nature, 2018, 560(7720): 595-600.
- [26] Zhou H, Liu Y, Mu B M, *et al.* Nitrogen limitation affects carbon and nitrogen metabolism in mung bean (*Vigna radiata* L.) [J]. Journal of Plant Physiology, 2023, 290: 154105.
- [27] Liu X J, Hu B, Chu C C. Nitrogen assimilation in plants: current status and future prospects [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2022, 49(5): 394-404.
- [28] Gao J W, Su Y, Zhang X H, *et al.* GABA-regulated transamination generates alternative carbon skeleton for root nitrogen assimilation of wheat under waterlogging stress [J]. Environmental and Experimental Botany, 2026, 241: 106284.
- [29] Fortunato S, Nigro D, Lasorella C, *et al.* The role of glutamine synthetase (GS) and glutamate synthase (GO-GAT) in the improvement of nitrogen use efficiency in cereals [J]. Biomolecules, 2023, 13(12): 1771.
- [30] Pascual L, Solé-Medina A, Faci I, *et al.* Development and marker-trait relationships of functional markers for glutamine synthetase *GS1* and *GS2* homeologues in bread wheat [J]. Molecular Breeding, 2023, 43(2): 8.
- [31] Qin A Z, Aluko O O, Liu Z X, *et al.* Improved cotton yield: can we achieve this goal by regulating the coordination of source and sink? [J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1136636.
- [32] Braun D M. Phloem loading and unloading of sucrose: what a long, strange trip from source to sink [J]. Annual Review of Plant Biology, 2022, 73: 553-584.
- [33] Rademacher T, Fonti P, LeMoine J M, *et al.* Insights into source/sink controls on wood formation and photosynthesis from a stem chilling experiment in mature red maple [J]. New Phytologist, 2022, 236(4): 1296-1309.
- [34] Lu J, Wang Y H, Wen Y Q, *et al.* A ray localized vacuolar sucrose transport is required for wood formation in *Populus tomentosa* [J]. The Plant Journal, 2025, 123(2): e70347.
- [35] Lu J, Ren Q, Wang Q L, *et al.* Cell wall invertase 4 governs sucrose-hexose homeostasis in the apoplast to regulate wood development in poplar [J]. Plants, 2025, 14(9): 1388.
- [36] Peng J, Liu E B, Wu Y D, *et al.* CsWRKY57L enhances freezing tolerance through flavonoid accumulation and modulates growth via *SWEETs* in tea plants [J]. Horticultural Plant Journal, 2026, 12(3): 720-734.
- [37] Le Y, Chen M L, Zhu D, *et al.* Transcriptional regulation of *SWEET15_A01* by MYB44/bHLH3 modulates carbon allocation in cotton ovule and fibre to affect seed and fibre traits [J]. Plant Biotechnology Journal, 2026, 24(3): 1769-1791.
- [38] Mahboubi A, Niittylä T. Sucrose transport and carbon fluxes during wood formation [J]. Physiologia Plantarum, 2018, 164(1): 67-81.