

烤烟叶片成熟期间碳氮代谢主要物质流分析

陈爱国, 王树声, 申国明, 梁晓芳, 刘光亮

中国农业科学院烟草研究所, 青岛崂山区科苑经四路 11 号 266101

摘要: 在山东莒县以中烟 100 为试验材料研究了烤烟叶片适宜成熟度与碳氮代谢的关系。结果表明: 烟叶总氮含量主要受叶绿素、烟碱和可溶性蛋白之外的含氮化合物的影响; 淀粉含量表现为施氮 135 kg/hm² 处理显著高于 90 kg/hm² 处理; 叶绿素含量与总氮含量显著相关, 其影响主要是直接影响; 随着烟叶成熟, 叶绿素逐渐降解, 总氮含量和可溶性蛋白含量逐渐下降; 烟碱的积累诱导了总氮含量的下降; 还原糖向淀粉合成方向的转化是单向的, 总糖向还原糖的转化方向也是单向的, 但总糖与淀粉的间接贡献表明, 这两个过程还受其他因素影响。根据以上结果认为: 烤烟叶片适宜成熟度是碳氮代谢主要物质流的特定状态, 而碳氮代谢主要物质流的调控是培育适宜成熟度的重要生理生化基础。

关键词: 烤烟; 成熟; 碳氮代谢; 物质流

doi: 10.3969/j.issn.1004-5708.2010.04.007

中图分类号: S572.01

文献标识码: A

文章编号: 1004-5708(2010)04-0030-05

Analysis of main material flows in carbon and nitrogen metabolism in maturing leaves in flue-cured tobacco

CHEN Ai-guo, WANG Shu-sheng, SHEN Guo-ming, LIANG Xiao-fang, LIU Guang-liang

Tobacco Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingdao 266101, China

Abstract: Field experiment was carried out in Juxian of Shandong province with two nitrogen treatments of 90 and 135 kg/hm² using variety Zhongyan 100 to study relationship between proper maturity and carbon and nitrogen metabolism in flue-cured tobacco leaves. Results showed that total nitrogen content was mainly influenced by some nitrides besides chlorophyll, nicotine and soluble protein. Starch content from 135 kg/hm² nitrogen treatment was significantly higher than those from 90 kg/hm² nitrogen treatment. Significant correlation existed between chlorophyll and total nitrogen, and the latter was directly affected by the former. As tobacco leaf approaching maturity, contents of total nitrogen and soluble protein declined gradually, and chlorophyll degraded. Accumulation of nicotine resulted in reduction of nitrogen in leaves. One-way translation occurred from reducing sugar to starch and from total sugar to reducing sugar. Indirect relationship between total sugar and starch indicated that the two processes were affected by other factors. Proper maturity of flue-cured tobacco leaves was a specified state of main material flows of carbon and nitrogen metabolism, and control of the latter was important physiological and biochemical base of the former formation.

Key words: flue-cured tobacco; ripeness; carbon and nitrogen metabolism; material flow

作者简介: 陈爱国,男,硕士,助理研究员,主要从事烟草营养与生理研究, Tel: 0532-88702576, E-mail: yescag@126.com

王树声(通讯作者),男,博士,研究员, Tel: 0532-88701879, E-mail: wangshusheng886@sohu.com

基金项目: 国家烟草专卖局资助项目“以成熟度为中心综合配套技术试验示范与推广”(110200401012); 中国农业科学院基本科研业务费资助项目“烤烟适宜成熟度品质形成指标研究”(0032007220)

收稿日期: 2009-08-04

烟叶品质的形成与碳氮代谢密切相关,而烟叶成熟期间是碳氮代谢的平衡和转化关键期之一。关于烟叶碳氮代谢对烟叶质量的影响已有不少研究^[1-2],主要分析了相关的主要化学成分变化对烟叶质量的影响,

研究单一化学成分对烟叶质量的影响,明确了氮代谢的主导地位^[3],但缺乏将碳氮代谢作为一个系统来研究的工作,对碳氮代谢主要物质流的相互影响和转化研究未见报道,因此有必要研究成熟期间主要物质流网络的变化,为烟叶品质形成和质量稳定提供理

论支撑和定向栽培调控的突破口。

1 材料与方

1.1 试验布局与处理

以中烟 100 为试验材料,2007 年试验安排在莒县棋山镇茅埠烟站张家官庄,土壤为棕壤型中壤偏粘,5 月 6 日移栽,行株距 110×50 cm,每公顷施用纯氮 90 kg 和 135 kg 二个处理, P_2O_5 为 90 kg/hm², K_2O 为 225 kg/hm²,氮肥、钾肥 70% 基施,30% 追施。磷肥全部基施。4 月 6 日施基肥,5 月 30 日追肥,小区面积 180 m²。7 月 15 日打顶,7 月 18 日开始取样。

1.2 取样与化验

取样时间为上午 9 点~10 点开始,取后立即放置于冰盒内带回实验室处理,顺序取样,设 3 次重复,一部分鲜烟叶用于测定叶绿素和可溶性蛋白的含量,同时测定淀粉酶活性的变化,另一部分于 105℃ 杀青半小时,再在 70℃ 条件下烘干,研磨成粉干燥保存,粉样送农业部质量检测中心化验,测定总氮、烟碱、淀粉、总糖、还原糖和总碳的含量。

叶绿素、可溶性蛋白含量的测定按张志良等^[4]的比色法,总氮采用国标 NY/YCT 001-2002 方法,总植物碱采用 YC/T 34-1996 标准光度法,可溶性糖采取菲林试剂法^[5]。总碳采用重铬酸钾法^[6]测定,淀粉酶活性采取李合生等^[7]的 3,5 二硝基水杨酸比色法,试验结果采用 SAS9.0 统计软件分析。

2 结果与分析

2.1 成熟期间叶绿素(Chl)与可溶性蛋白(Pr)含量的

变化

烟叶成熟期间叶绿素逐渐降解,其含量逐渐下降(图 1),打顶后的 13 d 内叶绿素含量快速下降,随后逐渐缓慢下降,不同氮肥处理的叶绿素含量表现出相同的变化趋势,处理间差异不显著 ($F_{Chl} = 0.05, p = 0.8390$); 可溶性蛋白主要是一些具生理活性的酶类,其含量前期也快速下降,随后还稍有升高,处理间差异不显著 ($F_{Pr} = 0.31, p = 0.5999$)(图 2)。

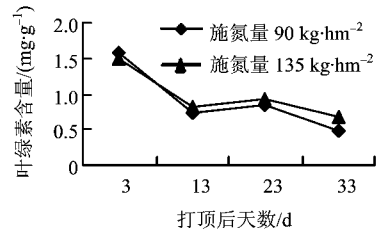


图 1 不同施氮量烟叶叶绿素含量的变化

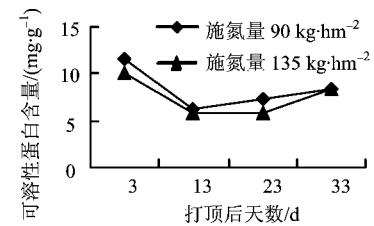


图 2 不同施氮量烟叶可溶性蛋白含量的变化

打顶后 3 至 13 d,叶绿素和可溶性蛋白含量均快速下降,表明烟叶进入成熟衰老。随后可溶性蛋白含量稍有上升,这可能与下部叶采收后源库比例的改变和光合条件的改善有关,相对较适宜的光温条件(见表 1)有利于 Rubisco 酶的羧化反应^[5]。

表 1 2007 年莒县烟叶团棵期至成熟期气象因子的变化趋势

	旬降雨量 /mm	月日照时数 /h	旬最高平均气温 /℃	旬 0 cm 平均地温 /℃	平均气温 /℃	旬平均相对湿度 /%
6 月下旬	132.6	285.4	32.18	41.16	25.1	65.27
7 月上旬	13.3	165.5	29.80	29.80	25.1	78.60
7 月中旬	21.7	165.5	29.80	34.19	25.4	74.10
7 月下旬	24.9	165.5	29.13	32.93	27.5	68.45
8 月上旬	61.7	130.4	26.18	27.68	26.6	82.00
8 月中旬	12.9	130.4	28.73	35.16	26.9	79.30

2.2 成熟期间总氮(N)与烟碱(TA)含量的变化

不同施氮量烟叶成熟期间总氮含量逐渐下降(图 3),处理间差异不显著 ($F_N = 1.19, p = 0.3173$),其中打顶后的 13 d 内总氮含量快速下降,总氮与叶绿素的变化趋势一致。

烟碱含量在成熟期间迅速增加(图 4),随着施氮量的增加烟碱含量增加,但增加的幅度没有成熟衰老发育进程的影响大。不同氮肥处理间烟碱含量差异不显著 ($F_{TA} = 0.37, p = 0.5629$)。

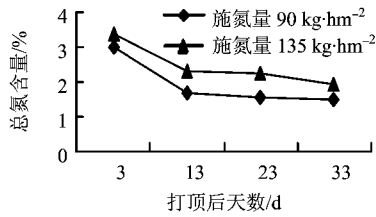


图3 不同施氮量烟叶总氮含量的变化

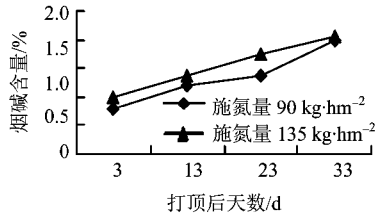


图4 不同施氮量烟叶烟碱含量的变化

2.3 成熟期间不同氮肥用量各含氮化合物对总氮的影响

烟叶总氮含量包括各种含氮化合物氮含量的总和,含氮化合物中主要是可溶性蛋白、叶绿素和烟碱,还有氨基酸、硝态氮及其他含氮化合物等。将成熟期间各含氮化合物的含氮量折算成干物质含氮量,各项折算氮以平均值代表,就可以分析各组分对总氮含量贡献率的大小(图5)。

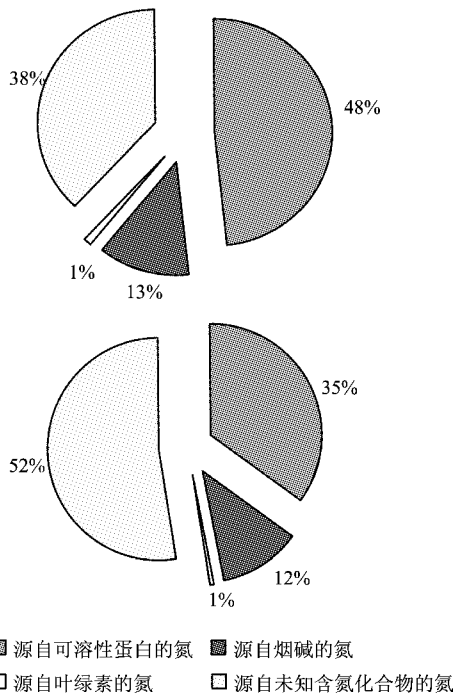


图5 不同施氮量各含氮化合物对总氮的贡献率

随着含氮量的增加,可溶性蛋白和烟碱对总氮的贡献率逐渐降低,叶绿素的贡献率维持在1%,未知氮对总氮的贡献率逐渐增加。

2.4 成熟期间总氮与各含氮化合物的关系

烟叶成熟期间总氮与叶绿素、烟碱和可溶性蛋白之间的相关性分析显示总氮与叶绿素含量极显著相关,叶绿素含量与总烟碱含量显著相关(表2),最大逐步相关方程中,只有叶绿素与总氮相关性极显著。

表2 总氮与叶绿素、烟碱、可溶性蛋白相关性分析

化学成分	叶绿素	烟碱	可溶性蛋白
总氮	r = 0.91430 p = 0.0015	r = -0.64387 p = 0.0849	r = 0.61189 p = 0.1069
叶绿素		r = -0.81612 p = 0.0135	r = 0.68571 p = 0.0605
烟碱			r = -0.43060 p = 0.2869

最大逐步相关方程: 总氮含量 = 0.71975 + 1.56287 * 叶绿素含量 (F = 30.57, p = 0.0015)

结果表明,叶绿素对总氮的影响主要是直接的,通径分析证明了这点(表3)。叶绿素与总烟碱虽然相关,但对总氮的贡献作用相反,说明两者是相对独立的代谢过程,这与烟碱是在根中合成有关。叶绿素与可溶性蛋白对总氮的贡献效果相反,间接系数表明叶绿素的降解首先是细胞中生理活性酶含量的降低。

表3 总氮对叶绿素、烟碱、可溶性蛋白的通径分析

因子	直接影响	→叶绿素	→烟碱	→可溶性蛋白
叶绿素	1.27817		-0.28589	-0.07798
烟碱	0.35030	-1.04314		0.04897
可溶性蛋白	-0.11373	0.87645	-0.15084	

2.5 成熟期间总碳(C)、淀粉(starch)含量的变化

打顶后烟叶总碳含量首先大幅下降(图6),而同期烟叶中大量的含氮化合物也逐渐下降,说明了烟叶中碳水化合物迅速被转移;打顶后淀粉含量却大幅上升(图7),且淀粉含量上升的幅度比总碳含量下降的幅度更大,说明淀粉仍在合成。不同施氮量处理间总碳含量的差异不显著 (F_C = 0.00, p = 0.9486),淀粉含量的差异显著 (F_{starch} = 7.79, p = 0.0316)。

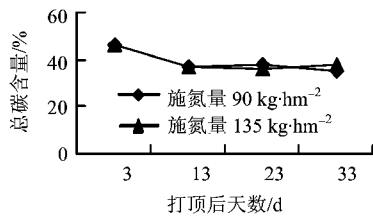


图6 不同施氮量烟叶总碳含量的变化

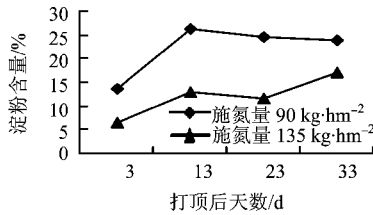


图7 不同施氮量烟叶淀粉含量的变化

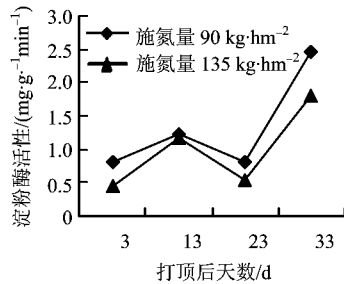


图8 不同施氮量烟叶淀粉酶活性的变化

2.6 成熟期间总糖(TS)与还原糖(RS)含量的变化

烟叶总糖含量的变化很小(图9),还原糖含量逐渐下降(图10),还原糖/总糖近似直线下降(图11),随着氮肥施用量的增加,两糖差逐渐增大,这主要是还原糖含量的降低造成的。总糖、还原糖和还原糖/总糖在不同处理间差异均不显著($F_{TS} = 0.56, p = 0.4825; F_{RS} = 0.09, p = 0.7700; F_{RS/TS} = 0.51, p = 0.5029$)。

2.7 成熟期总碳与各碳水化合物间的关系

成熟期各碳水化合物和总碳的相关分析表明,仅淀粉和总碳极显著相关,其他均相关不显著(表4)。各主要含碳化合物均不能与总碳建立最大逐步回归模型。

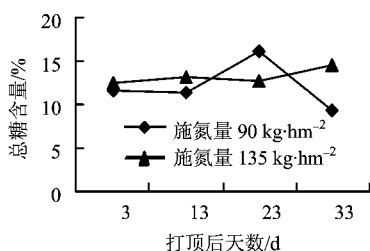


图9 不同施氮量烟叶总糖含量的变化

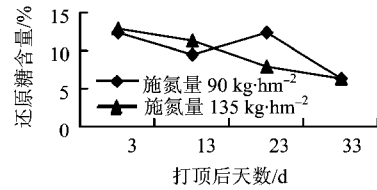


图10 不同施氮量烟叶还原糖含量的变化

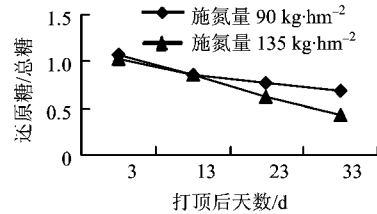


图11 不同施氮量烟叶还原糖/总糖的变化

表4 总碳与淀粉、总糖、还原糖含量的相关关系和回归分析

	淀粉	总糖	还原糖
总碳	$r = -0.39407$ $p = 0.0020$	$r = -0.15211$ $p = 0.2501$	$r = 0.10715$ $p = 0.4192$
淀粉		$r = -0.05610$ $p = 0.8950$	$r = -0.30762$ $p = 0.4586$
总糖			$r = 0.28440$ $p = 0.4948$

表5 成熟期间各碳水化合物对总碳的通路分析

因子	直接	→淀粉	→总糖	→还原糖
淀粉	-0.40914		0.01234	-0.18433
总糖	-0.22002	0.02295		0.17041
还原糖	0.59920	0.12586	-0.06257	

表5表明,总碳含量虽与淀粉含量极显著相关,但还原糖含量的直接贡献却最大,说明了还原糖比淀粉更容易受外界环境的影响,而淀粉积累是相对稳定的碳代谢过程。

3 结论与讨论

不同氮肥处理间各项含氮化合物差异不显著。烟草中含氮化合物种类大体可分为蛋白质、游离氨基酸、生物碱、硝酸盐以及烟草特有的亚硝胺。随着施氮水平的增加,可溶性蛋白和烟碱对总氮的贡献率逐渐降低,叶绿素的贡献率维持在1%,未知氮对总氮的贡献率逐渐增加。说明随着施氮量的增加,影响烟叶质量的主要原因是未知态氮的影响,其次是可溶性蛋白的影响,对未知态氮的影响效应有待进一步的研究。

叶绿素含量对总氮含量的贡献虽然不大,但其作

用主要是直接作用,从间接作用看,主要含氮化合物的物质流向表现为:随成熟进程,总氮含量逐渐下降,叶绿素降解,可溶性蛋白含量下降,氮元素转向总烟碱合成方向。这可能与烟碱的合成需要三羧酸循环中起始底物乙酰辅酶 A 有关,因此烟碱的积累可能削弱了生物体利用糖或其他物质氧化获得能量的有效途径,从而影响了叶绿素的光合作用^[8]。

还原糖含量对总碳的直接贡献最大,还原糖有利于淀粉对总碳的贡献,而淀粉不利于还原糖对总碳的贡献;总糖有利于还原糖对总碳的贡献,而还原糖却不利于总糖对总碳的贡献;结果表明,随着烟叶的成熟衰老,还原糖向淀粉合成方向的转化是单向的,总糖向还原糖的转化方向也是单向的,但总糖与淀粉的间接贡献表明,这两个过程还受其他因素影响,结果验证了林彩丽等^[3]的推论,即还原糖的减少是由于转向淀粉的积累。

Weybrew 等^[9]研究认为,决定烤烟优质的关键是烟株从硝酸盐还原代谢适时过渡到淀粉积累代谢,在正确施肥和适量水分条件下,这种过渡大约在开花期。只有在外部储存的硝酸盐被用完之后,淀粉才开始贮积。Collins 博士^[10]认为,要达到适宜的田间成熟度,要求打顶时,土壤中的有效 N 基本消耗殆尽。硝酸盐是影响碳氮代谢和器官生长发育的有效信号^[11],这些影响至少部分地通过基因表达的改变实现的^[12],在几分钟内,硝酸盐诱导了几百种基因编码蛋白的表达,包括 NRTs、NR、NiR,硝酸盐也诱导基因编码蛋白提供还原剂和改变碳代谢途径^[13]。在硝酸还原酶缺失株拟南芥中,淀粉的积累也可被铵态氮诱导^[14]。我们在试验中发现,随着施氮量的增加,淀粉的增加幅度低于打顶源库比改变的作用,淀粉的积累均在打顶后开始急剧增加,结果可能有两种解释,①打顶后 13 d 采样可能与打顶的时间间隔较长,不同施氮量处理之间,作为淀粉积累信号的硝酸盐均已消耗;②打顶造成源库比的改变超过了施氮量对淀粉积累的影响;尽管目前对硝酸盐与淀粉积累的关系还没有明确的认识,但氮肥对淀粉积累的影响是肯定的,氮肥消耗殆尽大约在打顶时期,因此生产上我们要求打顶时,土壤中有效氮应基本用完。本研究打顶后烟叶总碳含量快速下降,淀粉含量迅速上升,大量光合同化物转向淀粉的积累,还原糖向淀粉的积累方向转化,淀粉作为烟株生命活动

维持的能量供应,同时加速了烟叶干物质的降解与转移,从而加速了烟叶的衰老进程。

参考文献

- [1] 史宏志,韩锦峰,刘国顺,等. 烤烟碳氮代谢与烟叶香味关系的研究[J]. 中国烟草学报,1998,4(2): 56-63.
- [2] 王少先,彭克勤,夏石头,等. 烟草碳、氮代谢及氮肥施用对烟草产量和品质的影响[J]. 中国农学通报,2004,20(2): 135-138.
- [3] 林彩丽,杨铁钊,杨述元,等. 不同基因型烟草生长过程中主要化学成分的变化[J]. 烟草科技,2003(1): 30-34.
- [4] 张志良,翟伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 3版. 北京:高等教育出版社.
- [5] 肖协忠. 烟草化学[M]. 1版. 北京:中国农业科技出版社,1997.
- [6] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社,1999.
- [7] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2001.
- [8] Davis D L, Nielsen M T. 烟草一生产,化学和技术[M]. 北京:化学工业出版社,2003: 274.
- [9] Weybrew J A, Wanismail W A, Long R C. The cultural management of flue-cured tobacco quality[J]. Tobacco International, 1983,185(10): 82-87.
- [10] Collins W K, Hawks S W. 烤烟生产原理[M]. 陈江华,杨国安,译. 北京:科学技术文献出版社,1995.
- [11] Stitt M, Muller C, Matt P, et al. Steps towards an integrated view of nitrate metabolism[J]. Journal of Experimental Botany, 2002,53: 959-970.
- [12] Wang R, Okamoto M, Xing X, et al. Microarray analysis of the nitrate response in Arabidopsis roots and shoots reveals over one thousand rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-P, iron and sulfate metabolism[J]. Plant Physiology, 2003,132: 556-567.
- [13] Scheible W R, Krapp A, Stitt M. Reciprocal changes of phosphoenol-pyruvate carboxylase and cytosolic pyruvate kinase, citrate synthase and NADH-isocitrate dehydrogenase expression regulate organic acid metabolism during nitrate assimilation in tobacco leaves[J]. Plant, Cell and Environment, 2000, 23: 1155-1167.
- [14] Wang R C, Tischner R, Gutierrez R A et al. Genomic analysis of the nitrate response using a nitrate reductase-null mutant of arabidopsis[J]. Plant Physiology, 2004,136: 2512-2522.