

不同光质对烤烟质体色素含量及相关酶活性的影响

占 镇¹, 李军营², 马二登², 张云贵¹, 彭 友³, 李志宏^{1*}

(1. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081; 2. 云南省烟草农业科学研究院, 云南 玉溪 653100; 3. 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘 要: 为明确不同光质条件下, 烤烟叶片成熟过程中质体色素代谢的生理响应机制, 在大田环境下通过覆盖不同颜色薄膜获得不同光质, 研究了不同光质对烤烟生长发育过程中质体色素代谢的影响。结果表明, 红、黄光抑制了这一过程中叶绿素的降解, 表现在促进了叶绿素 a 的积累。红光还抑制了类胡萝卜素的降解。与之相比, 蓝光相反。黄、红光显著降低了叶绿素酶的活性, 蓝光则提高了叶绿素酶的活性。各单色光处理的脂氧合酶活性在成熟末期明显上升, 可能延缓叶片的衰老引起质体色素的进一步完全分解, 引起烤烟品质的改变。

关键词: 光质; 烤烟; 质体色素; 叶绿素酶; 脂氧合酶

中图分类号: S572.01

文章编号: 1007-5119(2014)02-0049-06

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2014.02.009

Effects of Different Lights on Pigments and Related Metabolism Enzyme Activities in Flue-cured Tobacco Leaves

ZHAN Zhen¹, LI Junyin², MA Erdeng², ZHANG Yungui¹, PENG You³, LI Zhihong^{1*}

(1. Institute of Agricultural Resources and Regional Planting, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100081, China;

2. Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Science, Yuxi, Yunnan 653100, China;

3. Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqin, Heilongjiang 163319, China)

Abstract: In order to clarify the physiological response mechanism of plastid pigment metabolism in the maturation of flue-cured tobacco leaves under different lights, the effect of different lights on pigment metabolism was investigated on field condition by covering four color films (white, red, yellow, and blue) above tobacco plants. The results showed that the red and yellow light significantly inhibited the degradation of chlorophyll by promoting the accumulation of chlorophyll a. Red light also inhibit the degradation of carotenoids, but the blue light was opposite. At the same time, the red and yellow light reduced the chlorophyllase activity, but the blue light significantly increased it. The activity of LOX in these monochromatic treatments increased significantly in the end of leaf maturity, which could delay the senescence of tobacco leaves and cause a further degrade of pigments. These changes influence tobacco quality.

Keywords: light; flue-cured tobacco; pigment; chlorophyllase; lipoxygenase

质体色素(叶绿素和类胡萝卜素)降解产物是烟叶中的重要致香物质, 其种类和含量决定着烟叶调制后的色泽, 同时与烟叶中的香气质与香气量也密切相关, 直接决定着烟叶的品质^[1]。因此, 对烤烟质体色素及其相关影响因素的研究在国内外一直是一个热点问题。光是影响植物生长发育的基本因素, 也是最重要的生态因子之一。不同光质对植

物的生长发育和形态建成都有影响^[2]。已有的研究表明, 不同光质不仅影响植物根系、茎的生长发育^[3-9], 芽的分化^[10-11], 叶片形态的形成^[12-13], 还影响基因表达^[14]。有关光质对于作物质体色素代谢的影响报道见于莴苣^[15]、黄瓜^[16]、草莓^[17]等植物, 但对烟草质体色素代谢的影响研究较少, 且限于对烤烟某一生长时期^[18-20]质体色素含量的研究。因此,

基金项目: 国家烟草专卖局项目“清香型特色优质烟叶开发”(Ts-03-20110021); 云南清香型特色优质烟叶开发(2011YN02); 国家烟草专卖局项目(110200901003)

作者简介: 占 镇, 男, 硕士研究生, 主要从事烤烟营养与生理研究。E-mail: zhanzhen0224@163.com。*通信作者, E-mail: zhli@caas.ac.cn

收稿日期: 2013-03-21

修回日期: 2013-11-05

笔者利用搭建拱棚覆盖不用颜色薄膜获取不同光质,在大田条件下进行光质模拟试验,其他因素均与自然条件下基本保持一致,通过比较不同光质处理下整个成熟期内烟叶质体色素含量变化及相关酶活性的差异,探讨不同光质下烤烟叶片生长发育过程中质体色素含量变化的生理响应机制。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于云南省江川县进行,供试品种为 K326。漂浮育苗后移栽至大田,行距×株距为 120 cm×50 cm,移栽 45 d 后,统一进行覆膜处理,以获取不同光质,至烤烟采收结束。田间管理按当地常规操作。

土壤类型为水稻土,质地为重壤,pH 6.88,有机质含量 27.53 g/kg,碱解氮 117.25 mg/kg,速效磷 12.18 mg/kg,速效钾 104.77 mg/kg。

1.2 方法

通过在田间搭建小拱棚覆盖不用颜色薄膜(由云南省玉溪旭日塑料厂提供,薄膜 0.08 mm)来获取不同光质,自然光下,每小区移栽 29 株烟,搭建拱棚后,薄膜下每小区有效覆盖烟株 24 株。共设 4 个光质处理,分别为覆盖白膜获得白光(W),红膜获得红光(R),蓝膜获得蓝光(B),黄膜获得黄光(Y),其中白膜处理作为对照(CK),每个处理 3 次重复。覆膜处理后,根据烟株长势,适时调整拱棚高度,使烟株顶部与棚顶始终保持约 50 cm。根据外界降雨情况,及时对棚内烟株进行补水。膜内光谱参数采用 ASD Filed@spc.3 光谱仪测得(表 1)。其滤过波长与预期基本吻合,各薄膜下光照强度也无显著差异,薄膜的技术参数达到预期要求。

表 1 各薄膜下的光谱参数

Table 1 light parameters under various films

滤膜颜色	滤过波长	波峰	透光率
白(W)	-	-	70
红(R)	600~720	670	70
蓝(B)	450~500	470	68
黄(Y)	540~630	590	73

1.3 取样及测定项目

苗期移栽后,每小区选取长势均匀的 15 株烟挂牌标记,作为取样烟株。于烤烟覆膜前 1 天及覆膜后 10、20、30、40 d 对烤烟中部叶(自下往上第 10~11 片叶)取样,田间采样时,每个处理小区任意选取 2 株标记烟株,去掉叶尖和叶尾,迅速投入液氮中,带回实验室超低温保存,冷冻干燥后用于质体色素含量、叶绿素酶(Chlase)及脂氧合酶(LOX)活性测定。

1.4 测定方法

1.4.1 质体色素含量的测定 质体色素的测定参照文献[21]。叶绿素 a、叶绿素 b、β-类胡萝卜素和叶黄素标样均购自 SIGMA 公司,采用外标法定量。

1.4.2 叶绿素酶活性测定 丙酮粉和叶绿素酶的制备参照 Mosquera 等[22]的方法,略加修改。叶绿素酶活性的测定参照 Amir-Shapira 等[23]的方法,略加改动。蛋白质含量的测定参照 Smith 等[24]的方法,以牛血清白蛋白(BSA)为标准蛋白。

1.4.3 脂氧合酶(LOX)活性的测定 底物的配制参照徐向群[25]的方法,酶液的制备参照孙谷畴[26]的方法,酶活性的测定采用徐向群[25]的方法。

1.5 数据处理

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 不同光质对烤烟叶片发育过程中叶绿素含量的影响

2.1.1 叶绿素含量 叶绿素含量的变化是烤烟衰老的决定因素之一。如图 1 所示,在整个叶片成熟过程中,叶绿素含量不断下降,且前期和中期较平缓,后期开始加快。至叶片成熟时(覆膜 40 d),红、黄光处理下的叶绿素含量显著高于对照(白光),蓝光处理下则显著低于对照(白光)。

叶绿素各组分在叶片成熟过程中的降解受光质的影响也比较大,至叶片成熟,红光处理下的叶绿素 a 含量显著高于对照(白光)处理,黄光处理

的叶绿素 a 含量除在处理 30 d 时,其他时期内也显著高于对照(白光),蓝光处理则从覆膜 30 d 开始,叶绿素 a 开始加快分解,至叶片成熟时含量显著低于对照(白光)。各处理均促进了叶绿素 b 的降解。

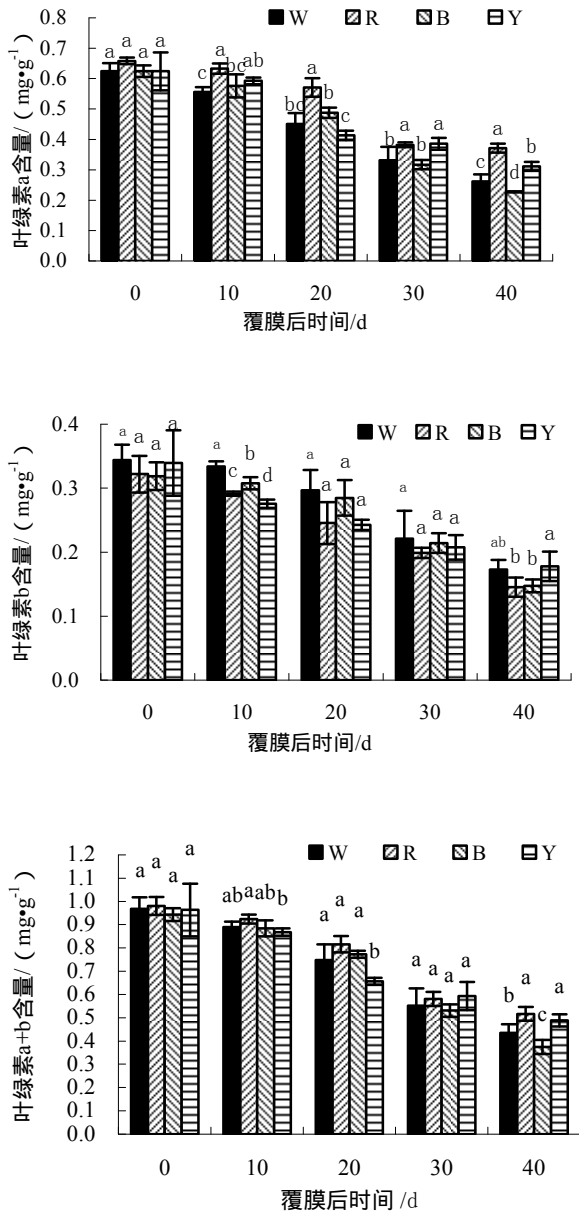


图 1 不同光质下叶片成熟过程中叶绿素含量动态变化

Fig. 1 The chlorophyll contents during the mature period of leaves in various light treatments

2.1.2 叶绿素酶活性 从图 2 可以看出,整个叶片成熟过程中,各处理的叶绿素酶活性均表现出先降低,再上升,后降低的规律。在覆膜 10 d 内,各个处理的酶活性均快速下降,这段时期内各处理的酶

活性基本无差异,叶绿素降解也较缓慢。此后 10 d 内,各处理的酶活性大幅升高,至覆膜 20 d 时,处理间差异明显,蓝光及对照(白光)处理的酶活性显著高于黄、红光处理。此后各处理酶活性急剧下降,仍表现出蓝光>对照(白光)>红光>黄光处理,至叶片成熟时,各处理间几乎无差别。

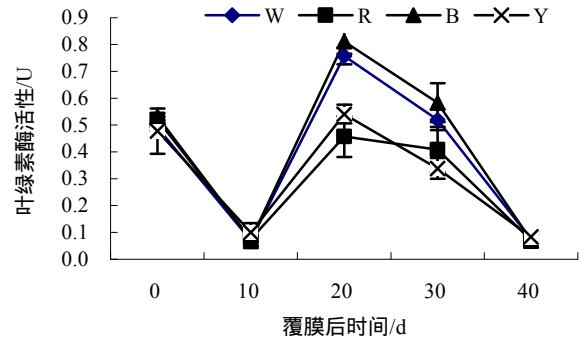


图 2 不同光质下烤烟叶片成熟过程中叶绿素酶活性动态变化

Fig. 2 The activity of chlorophyllase during the mature period of leaves in different treatments

2.2 不同光质对烤烟叶片发育过程中类胡萝卜素含量的影响

2.2.1 总类胡萝卜素含量 由图 3 可知,烤烟叶片生长过程中,总类胡萝卜素含量的变化趋势是随叶片的成熟而下降。对照(白光)和蓝光处理表现出前期下降较快,中后期趋于平缓。红光处理则与之相反,前期和中期下降较慢,后期较快;黄光处理的前期和后期均下降较慢,中期较快。整个成熟期内,红光处理的类胡萝卜素总量基本均高于对照(白光)。对照(白光)处理下的 β-类胡萝卜素和叶黄素含量变化同类胡萝卜素总量变化一致,前期下降较快,中后期趋于平缓。红光处理的 β-类胡萝卜素和叶黄素含量前期和中期变化较小,后期下降明显。蓝光处理的 β-类胡萝卜素含量变化与红光处理类似,叶黄素则基本是下降较为平缓。黄光处理均是中期显著下降,前期和后期变化较小。到叶片成熟末期,对照(白光)处理的叶片中 β-类胡萝卜素占总类胡萝卜素的比例为 32.16%,与覆膜前 32.57% 基本无变化,而红光下这一比例由 32.63% 上升至

34.22%，略有升高，蓝、黄光处理分别由 30.85%、31.36%降低为 28.86%、29.39%。

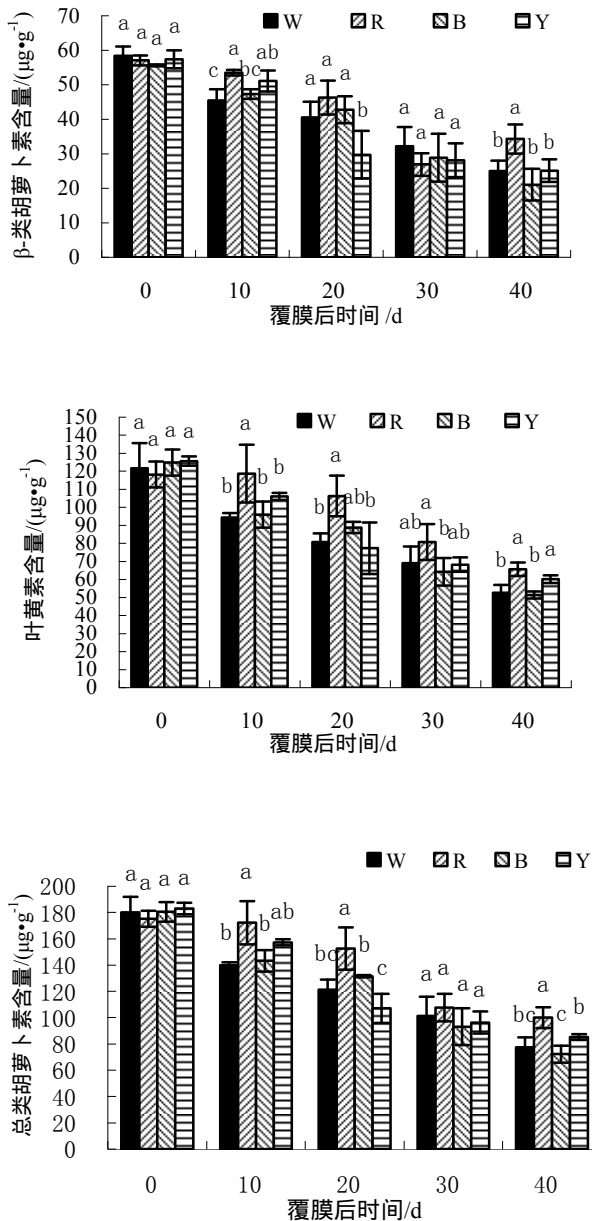


图 3 不同光质下烤烟叶片成熟过程中类总胡萝卜素动态变化

Fig. 3 The carotenoids contents during the mature period of leaves in different treatments

2.2.2 脂氧合酶 (LOX) 活性 如图 4 所示, 在叶片成熟期间, LOX 的活性先降低后升高。覆膜前, 各处理酶活性无显著差异, 覆膜 0~10 d 内, 酶活性均下降, 红、黄光下降较快, 显著低于白光 (对照)

和蓝光处理。10 d 后, 各处理的酶活性逐渐上升, 以黄光处理上升最快, 这段时期内, 红光处理的酶活性显著低于其他处理。此后, 各处理的酶活性继续升高, 而黄光处理则急剧下降。在覆膜 10~30 d 内, 红光处理的酶活性均显著低于对照 (白光), 而黄光处理则使先显著高于对照 (白光), 后低于对照 (白光); 30 d 后, 对照 (白光) 的酶活性略有下降, 趋于稳定。而其他 3 个处理的酶活性均大幅上升, 尤其蓝、红膜处理下酶活性显著高于对照。

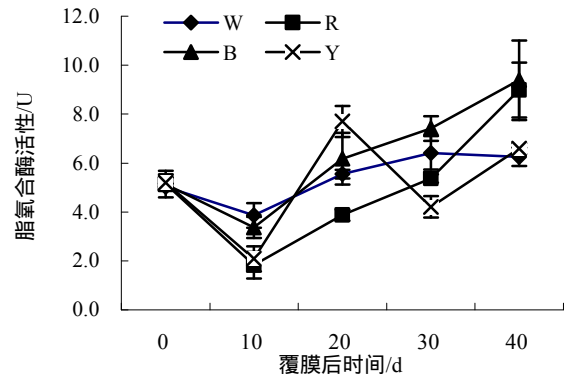


图 4 不同光质下烤烟叶片成熟过程中脂氧合酶活性动态变化

Fig. 4 The activity of LOX during the mature period of leaves in different treatments

3 讨论

烤烟新鲜叶片中的类胡萝卜素主要分为两大类, 胡萝卜素类和叶黄素类。其中, 叶黄素类约占 65%, 胡萝卜素类约占 35%, 而叶黄素类以叶黄素为主, 胡萝卜素类以 β-类胡萝卜素为主^[27]。烤烟叶片生长成熟过程中, 一般在打顶前质体色素积累到高峰, 此后转入代谢过程, 以降解和转化为主^[28-32]。本试验进一步印证了这一结论。本研究结果还表明, 在烤烟成熟期, 蓝光处理的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素及总类胡萝卜素含量在处理末期显著低于对照, 而红光处理下, 总叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b 及总类胡萝卜素含量均显著高于对照, 黄光能够提高叶绿素含量, 这一试验结果与柯学等^[19]在烟草的研究结果一致, 也与前人在其他作物上的研究结果一致^[7,15-17]。表明红、黄光抑制了烤烟质体色素在成熟期的降解, 蓝光反之。但是与史宏志

的研究结论，白光下生长的叶片的叶绿素 a 和 b 以及总叶绿素含量都显著高于单色红光和蓝光下生长的叶片，红、蓝光均提高叶绿素 a/b 的相反^[33]，此外报道中提及的蓝光能够促进叶绿素代谢平衡向叶绿素 a 的积累转化，黄光提高类胡萝卜素含量在本试验中则体现的并不明显^[7,19]。这可能是因为所用光源以及取样时期不一致所造成的。本试验中红光提高了胡萝卜素类色素在类胡萝卜素的比列，而黄、蓝光则降低了这种比列，类胡萝卜素中各组分的比列的改变，以此可能会引起香气质与香气量的变化。

叶绿素酶是烤烟叶片中叶绿素代谢活动中的关键酶，其酶活性高低可以直观反映出叶片中叶绿素代谢活动的强弱^[34-35]。脂氧合酶是类胡萝卜素降解过程中的关键酶，类胡萝卜素在脂氧合酶(LOX)作用下氧化分解的中间产物香叶醇、紫罗兰酮、紫萘酮、黄质醛等是烟叶重要的致香物质。LOX 的氧化反应及其产物代谢过程中常伴随有氧自由基形成和积累，引发膜脂过氧化，使膜脂脱脂和引起膜渗漏，造成膜功能丧失，直接影响成熟期间的烟叶衰老进程^[36-38]。

质体色素含量的改变可能与光质处理改变了叶片成熟过程中质体色素代谢酶活性有关。红光显著降低了烤烟成熟中期叶绿素酶活性和脂氧合酶活性，其在成熟期间的叶绿素和类胡萝卜素降解量也显著降低，蓝光提高了叶绿素酶活性，提高了整个成熟期脂氧合酶活性，其成熟期间叶绿素降解量和类胡萝卜素降解量显著提升。成熟中期黄光对叶绿素酶活性的抑制和对脂氧合酶的提高，可能也是其叶绿素降解量降低和类胡萝卜素降解量的提高有关。至于光质处理影响叶片中相关质体色素代谢酶活性的机理，以及酶活性对成熟过程质体色素的降解代谢的影响，尚需进一步通过分子手段研究证明。

综上所述，不同的光质对烤烟的质体色素在成熟期间的代谢影响非常明显。其中红、黄光显著抑制了成熟期间叶绿素降解，主要表现在促进了叶绿素 a 在这一过程中的积累，其处理期间的叶绿素酶

活性与脂氧合酶活性相较于对照也较低，蓝光反之。红光还抑制了类胡萝卜素在成熟过程中的降解，蓝、黄光则影响不明显。各处理均改变了类胡萝卜素的组分在处理前后的比列，这一比列的改变可能是烤烟香气质与香气量变化的生理基础。

4 结 论

结果表明，不同光质处理下，红、黄光下叶绿素酶活性在成熟期间的活性较低，抑制了叶绿素的降解，红光对类胡萝卜素的降解也产生了明显的抑制作用。与之相比，蓝光则相对促进了烤烟质体色素在成熟期间的降解。各处理的类胡萝卜素组分在处理前后均产生了明显的变化。至于光质如何调控成熟期间叶片中相关酶活性进而影响到质体色素含量的变化，尚需进一步采用精细的光源控制，通过分子手段加以验证。

参考文献

- [1] 高远, 宋朝鹏, 杨义方, 等. 不同烘烤工艺烤烟香气质量的主成分分析[J]. 江西农业学报, 2009, 21(12): 36-39, 45.
- [2] Franklin K A. Light and temperature signal crosstalk in plant development [J]. Current Opinion in Plant Biol. 2009(12): 63-68.
- [3] 倪文. 光对稻苗根系生长及其生理活性的影响[J]. 作物学报, 1983(3): 199-204.
- [4] 刘志民, 杨甲定, 刘新民. 青藏高原几个主要环境因子对植物的生理效应[J]. 中国沙漠, 2000, 20(3): 309-313.
- [5] 倪德祥, 张丕方, 陈刚, 等. 光质对锦葵愈伤组织生长和发根的效应[J]. 上海农业学报, 1985, 1(3): 39-46.
- [6] 李韶山, 潘瑞炽. 蓝光对水稻幼苗生长效应的研究[J]. 中国水稻科学, 1994, 8(2): 115-118.
- [7] 蒲高斌, 刘世琦, 刘磊, 等. 不同光质对番茄幼苗生长和生理特性的影响[J]. 园艺学报, 2005, 32(3): 420-425.
- [8] 杜洪涛, 刘世琦, 张珍. 光质对彩色甜椒幼苗生长及酶活性的影响[J]. 华北农学报, 2005, 20(2): 45-48.
- [9] 刘清丽, 李合生. 光质对农垦 58S 黄化苗形态建成、色素、蛋白质含量的影响[J]. 华中农业大学学报, 1994, 13(6): 636-640.
- [10] 张丕方, 董崇褶, 倪德祥, 等. 光质对五种不同生活型植物的器官发生和生长的影响[J]. 武汉植物学研究, 1989, 7(4): 339-344.

- [11] Seihert M, Welherbee P J, Job D D. *Plant Physiol* [J]. 1975, 56: 130-139.
- [12] 孔云, 王绍辉, 沈红香 等. 不同光质补光对温室葡萄新梢生长的影响[J]. *北京农学院学报*, 2006, 21(3): 23-25.
- [13] 史宏志, 韩锦峰, 管春云, 等. 红光和蓝光对烟叶生长碳氮代谢和品质的影响[J]. *作物学报*, 1999, 25(2): 215-220.
- [14] Azari R, Tadmor Y, Meir A, et al. Light signaling genes and their manipulation towards modulation of phytonutrient content in tomato fruits[J]. *Biotech Adv*. 2010(28): 108-118.
- [15] 许莉, 刘世琦, 齐连东, 等. 不同光质对叶用莴苣光合作用及叶绿素荧光的影响[J]. *中国农学通报*, 2007, 23(1): 96-100.
- [16] 储钟稀, 董哲, 冯丽洁, 等. 不同光质对黄瓜叶片光合特性的影响[J]. *植物学报*, 1999, 41(8): 867-870.
- [17] 徐凯, 郭延平, 张上隆. 不同光质对草莓叶片光合作用和叶绿素荧光的影响[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(2): 369-375.
- [18] 史宏志, 韩锦峰, 官春云, 等. 红光和蓝光对烟叶生长、碳氮代谢和品质的影响[J]. *作物学报*, 1999, 25(1): 215-220.
- [19] 柯学, 李军营, 李向阳, 等. 不同光质对烟草叶片生长及光合作用的影响[J]. *植物生理学报*, 2011, 47(5): 512-520.
- [20] 郭春芳, 李军营, 李向阳, 等. 不同颜色薄膜遮光对烟草长期质体色素含量的影响[J]. *中国烟草学报*, 2011, 17(6): 48-53.
- [21] 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, 2000.
- [22] Minguez-Mosquera M I, Rojas B G, Guerrero L G. Measurement of Chlorophyllase activity in olive fruit [J]. *J. Biochem*, 1994 (116): 263-268.
- [23] Amir S, Almant A. Chlorophyll catabolism in senescing and intensity of visible light [J]. *Plant Physiol*, 1973, 51(4): 723-726.
- [24] Smith P K, Krohn R I, Hermanson G T, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid[J]. *Anal Biochem*, 1985, 150(1): 76-85.
- [25] 徐向群. 茶儿茶素类物质对大豆脂氧合酶活性的影响[J]. *中国茶叶*, 1989(3): 8-9.
- [26] 孙古畴. 激动素与黄嘌呤氧化酶对水稻和豌豆叶片脂氧合酶活性的影响[J]. *植物生理学通讯*, 1990(6): 32-34.
- [27] 李玲. 高等植物脱落酸生物合成研究进展[J]. *植物学报*, 1990, 16(3): 257-261.
- [28] Desmond M Whitfield, Kingsley S Rowan. Changes in the chlorophylls and carotenoids of leaves of *Nicotiana tabacum* during senescence[J]. *Phytochemistry*, 1974, 13(1): 77-83.
- [29] Court W A, Hendel J G. Changes in leaf pigments during senescence and curing of flue-cured tobacco[J]. *Canadian journal of plant science*, 1984, 64(1): 229-232.
- [30] Burton H R, Kasperbauer M J. Changes in chemical composition of tobacco lamina during senescence and curing. 1. Plastid pigments[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1985, 33(5): 879-883.
- [31] 韦凤杰, 范艺宽, 刘国顺, 等. 饼肥对烤烟叶片发育过程中质体色素降解及相关酶类活性的影响[J]. *作物学报*, 2006, 32(5): 766-771.
- [32] 顾少龙, 史宏志, 苏菲, 等. 成熟期氮素调亏对烟叶质体色素降解和中性香气物质含量的影响[J]. *华北农学报*, 2012, 27(5): 207-212.
- [33] 史宏志, 韩锦峰. 单色蓝光和红光对烟苗叶片生长和碳氮代谢的影响[J]. *河南农业大学学报*, 1998, 32(3): 258-262.
- [34] Debora J W, Doron H, Elifzer E G, et al. Chlorophyll breakdown by Chlorophyllase: isolation and functional expression of the chlase1 gene from ethylene-treated citrus fruit and its regulation during development[J]. *Plant J*, 1999, 20(6): 653-661.
- [35] 沈成国, 张福锁, 毛达如. 植物叶片衰老过程中叶绿素降解代谢研究进展[J]. *植物学通报*, 1998(S1): 41-46.
- [36] Annerose K, Tankred S, Hieke B, et al. The effects of soybean lipoxygenase-1 on chloroplasts from wheat[J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(3): 381-384.
- [37] 张荣平. 脂氧合酶在植物体内的生理功能[J]. *莱阳农学院学报*, 1993, 10(1): 47-51.
- [38] 中国农业科学院烟草研究所. *中国烟草栽培学*[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.