

不同氮素形态及比例对烤烟多酚及相关酶活性动态的影响

孟祥东¹ 赵铭钦^{1*} 李元实² 孙国伟² 韩富根¹

(1. 河南农业大学 烟草学院/国家烟草栽培生理生化研究基地,河南 郑州 450002; 2. 吉林烟草工业有限责任公司,吉林 延吉 133001)

摘要:以烤烟品种吉烟9号(*Nicotianatobacum* L.)为试验材料,通过盆栽试验,研究不同氮素形态对烤烟多酚及相关酶活性动态的影响。结果表明,氮素形态对烤烟多酚及酶活性有明显影响,移栽30 d后,50%硝态氮+50%铵态氮处理多酚类物质含量明显提高。在移栽后30~75 d,50%硝态氮+50%铵态氮处理POD和PAL一直保持相对较高水平,且PAL活性随着硝态氮比例的增加而增强,栽后75 d达到高峰后迅速降低;在移栽后60 d,75%铵态氮+25%硝态氮处理PPO活性达到峰值;生长前期APX活性随着铵态氮比例的增加而增强,移栽后75 d达到峰值而后迅速降低且以50%硝态氮+50%铵态氮处理活性最强。

关键词:烤烟;氮素形态;多酚;酶活性

中图分类号:S572.01 文献标识码:A 文章编号:1000-2286(2010)01-0025-06

Effects of Different NO_3^- -N/ NH_4^+ -N Ratios on Polyphenols and Related Enzyme Activity of Flue-cured Tobacco Leaves

MENG Xiang-dong¹ ZHAO Ming-qin^{1*}, LI Yuan-shi²,
SUN Guo-wei², HAN Fu-gen¹

(1. College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, National Tobacco Cultivation and Physiology and Biochemistry Research Center, Zhengzhou 450002, China; 2. Tobacco Industrial Limited Corporation of Jilin, Yanji 133001, China)

Abstract: A study was conducted on the effect of different nitrogen forms on polyphenols and related enzyme activity in flue-cured tobacco leaves. The nitrogen forms had obviously influence on polyphenols and related enzyme activity of flue-cured tobacco, the content of the chlorogenic acid, rutin and total phenols increased 30 d after transplanting, the content of polyphenols of 50% ammonium nitrogen + 50% nitrate nitrogen treatment increased obviously. POD and PAL activity of 50% ammonium nitrogen + 50% nitrate nitrogen treatment was the highest 30-75 d after transplanting, and the activity of PAL increased by increasing nitrate nitrogen and peaked 75 d after transplanting then decreased quickly. PPO activity of 75% ammonium nitrogen + 25% nitrate nitrogen treatment reached the peak on the 60 d after transplanting. The activity of APX increased by increasing ammonium nitrogen during the early stages of growth, and peaked on the 75 d after transplanting

收稿日期:2009-10-13 修回日期:2009-12-09

基金项目:吉林省烟草工业有限责任公司重大科技攻关项目(JY2006012)

作者简介:孟祥东(1983-),男,硕士生,主要从事烟草化学与工程研究,E-mail:starmengdong@163.com;* 通讯作者:赵铭钦,教授,博士,E-mail:mqzhao999@tom.com。

and then decreased quickly and the activity of APX of 50% ammonium nitrogen + 50% nitrate nitrogen treatment was the strongest.

Key words: flue-cured tobacco; nitrogen forms; polyphenols; enzyme activity

烤烟中的酚类及其相关化合物包括丹宁类(绿原酸的异构体、咖啡酸和奎尼酸)、黄酮类(芸香苷、黄酮、鼠李糖、黄酮醇)、简单酚衍生物等^[1],绿原酸和芸香苷是烤烟中最主要的酚类物质,烤烟中多酚的含量较高,为干烟叶量的 0.52% ~ 6.4%^[2]。多酚类化合物在烤烟的生长发育、调制特性、色泽和等级以及香气品质等方面起着重要作用^[3-6],是衡量烤烟品质的重要因素,为提高烟叶品质、研究多酚类物质有十分重要的意义。烟叶中各种物质的转化与积累与某些酶活性的变化有关^[7],如多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)等。PPO 等相关酶参与多酚类物质的氧化^[8-10],在烟株抗病防御体系中起重要作用,其催化形成的产物及其衍生物与烤烟的色泽、香吃味及烤烟品质密切相关。近年来,国内外对烟草中的多酚类化合物研究进展较快,但多局限于烘烤方面^[11-13],而栽培技术(氮素形态比例)对烤烟多酚类物质含量及酶活性的影响缺乏深入的研究。有研究^[14]表明,氮是烟草生长发育的必需营养元素,氮素营养对烤烟质量起着重要的作用。不同地区的硝态氮、铵态氮比例相差径庭,一般在(75% : 25%) ~ (25% : 75%)变化^[14-17],合适的硝态氮、铵态氮比例具有强烈的地域特征。因此,本试验在延边地区分析研究烤烟生长过程中不同氮素形态比例对多酚及相关酶活性的影响,旨在为合理利用氮肥、提高烟叶品质提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

试验于 2007 ~ 2008 年度在吉林延边烟草试验示范园区网室内进行。采用盆栽试验方法,用高 40 cm、盆口直径 40 cm、盆底直径 35 cm 的素烧陶盆。试验前,先在网室内起垄,按 100 cm × 45 cm 行、株距,将陶盆置于垄上。每盆装土 35 kg,装盆前土经过风干,并过 0.5 mm × 1 mm 网筛,试验用土取自园区耕作层 0 ~ 30 cm。土壤质地为暗棕壤,土壤 pH 为 6.8,有机质含量为 13.88 g/kg,碱解氮为 69.8 mg/kg,速效磷为 11.9 mg/kg,速效钾为 140.3 mg/kg。供试烤烟品种为吉烟 9 号(*Nicotianatobacum* L.)。

试验为氮素形态比例单因素试验,设 3 个处理,分别是 T₁:75% 铵态氮 + 25% 硝态氮;T₂:50% 硝态氮 + 50% 铵态氮;T₃:75% 硝态氮 + 25% 铵态氮,完全随机区组排列,每处理 20 盆。每盆施氮水平均为 2.5 g、P₂O₅ 5 g 和 K₂O 6.25 g,P、K 肥作为基肥一次性施入,氮肥的基肥和追肥比例为 60% : 40%。5 月 10 日移栽并施基肥,追肥于 7 月 5 日施入。分别于移栽时、移栽 60 d 每盆施入总氮量 10% 的硝化抑制剂双氰铵(DCD),以保证氮素形态的相对稳定。施用的肥料和土壤在装盆前充分混匀,装盆时每盆上层覆盖 5 cm 未混肥土壤,尽量避免氮素的挥发。

自烟苗移栽后,从发生的第 1 片叶开始标记,第 1 ~ 3 片叶作为废弃叶,以中部叶(第 11 ~ 12 叶位)为试验材料。从移栽后 30 d 开始,每 15 d 取 1 次中部叶,每处理重复 3 次,立即置入液氮中速冻 30 min,放入 -80 °C 冰箱中保存,取样结束后,统一测定其酶活性。鲜样 1 份留叶中间 1/3 区域用于测定 PPO、PAL、POD、APX 等活性;留 1 份鲜叶在温度 105 °C 杀青 15 min 后,65 °C 下烘干磨碎,过 40 目筛后保存,用于测定多酚、绿原酸、芸香苷。

1.2 测定项目与方法

总酚采用福林试剂法^[18]测定,参考文献[19]采用 YC/T202 - 2006^[20]规定的方法测定烤烟样品中的绿原酸、芸香苷;苯丙氨酸解氨酶采用紫外分光光度法^[21]测定;多酚氧化酶和抗坏血酸氧化酶采用剩余滴定法^[22];过氧化物酶采用愈创木酚法^[23]。最后采用 DPS 统计软件进行数据统计分析。

2 结果与讨论

2.1 不同氮素形态对烤烟多酚物质的影响

烤烟中多酚类物质反映烤烟的遗传特性和生长发育状态,对烟叶的颜色、烟气质量和生理强度起着明显的作用^[2]。不同氮素形态比例条件下,烤烟总酚含量的变化规律基本相似(表 1)。随着生育期的

推进,各处理的总酚含量变化趋势大概一致,在整个生育过程中均呈持续上升趋势;从栽后 30~60 d 上升缓慢,之后以较快的速度上升至栽后 90 d,总酚含量大小依次为处理 T₂、处理 T₃、处理 T₁;在生长过程中,各处理之间均达到显著水平。说明适当增加硝态氮比例,有利于总酚含量的提高。

表 1 不同氮素形态对烤烟总酚含量的影响

Tab. 1 Effects of different nitrogen forms on the content of total phenols of flue-cured tobacco mg/g

处理 Treatment	移栽 30 d Transplanting 30 d	移栽 45 d Transplanting 45 d	移栽 60 d Transplanting 60 d	移栽 75 d Transplanting 75 d	移栽 90 d Transplanting 90 d
T ₁	1.71 ± 0.02c	1.74 ± 0.01c	1.86 ± 0.01c	1.99 ± 0.005c	2.67 ± 0.01c
T ₂	1.94 ± 0.09a	2.13 ± 0.05a	2.15 ± 0.05a	2.27 ± 0.01a	2.93 ± 0.06a
T ₃	1.85 ± 0.06b	1.91 ± 0.02b	1.98 ± 0.1b	2.13 ± 0.03b	2.83 ± 0.05b

同一列中标以不同小写字母的值分别在 5% 水平差异显著。

Values within the same column followed by a different letter are significantly different at 5% (small letter) probability levels, respectively.

芸香苷和绿原酸是烤烟特征香气成分,对烟气香味有直接影响,过多降解,会使烤烟香气变淡^[2]。由表 2 可知,处理 T₁、处理 T₂ 的绿原酸含量在整个生长过程中以稳定的速度升高;处理 T₃ 绿原酸含量从栽后 30~60 d 基本不变,之后以相对较快的速度升高,绿原酸含量大小依次表现为处理 T₂、处理 T₃、处理 T₁。由表 3 可知,各处理芸香苷含量变化规律类似,均表现为从栽后 30~60 d 是一个缓慢上升的趋势,之后略有下降;在移栽 75 d 后又以较快的速度升高,且大小依次为处理 T₂、处理 T₃、处理 T₁。在烤烟生长成熟过程中各处理之间绿原酸和芸香苷含量差异均达到显著水平,说明在生长成熟中后期,适当增加硝态氮比例,能明显提高绿原酸、芸香苷物质的含量,改善烤烟烟叶香气风格。

表 2 不同氮素形态对烤烟绿原酸含量的影响

Tab. 2 Effects of different nitrogen forms on the content of chlorogenic acid of flue-cured tobacco mg/g

处理 Treatment	移栽 30 d Transplanting 30 d	移栽 45 d Transplanting 45 d	移栽 60 d Transplanting 60 d	移栽 75 d Transplanting 75 d	移栽 90 d Transplanting 90 d
T ₁	1.03 ± 0.01c	1.16 ± 0.02c	1.19 ± 0.01c	1.40 ± 0.02c	1.53 ± 0.06c
T ₂	1.24 ± 0.05a	1.31 ± 0.03a	1.38 ± 0.04a	1.64 ± 0.05a	1.68 ± 0.02a
T ₃	1.18 ± 0.01b	1.20 ± 0.04b	1.30 ± 0.06b	1.51 ± 0.03b	1.59 ± 0.02b

同一列中标以不同小写字母的值分别在 5% 水平差异显著。

Values within the same column followed by a different letter are significantly different at 5% (small letter) probability levels, respectively.

表 3 不同氮素形态对烤烟芸香苷含量的影响

Tab. 3 Effects of different nitrogen forms on the content of rutin of flue-cured tobacco mg/g

处理 Treatment	移栽 30 d Transplanting 30 d	移栽 45 d Transplanting 45 d	移栽 60 d Transplanting 60 d	移栽 75 d Transplanting 75 d	移栽 90 d Transplanting 90 d
T ₁	0.45 ± 0.03c	0.53 ± 0.01c	0.63 ± 0.01c	0.59 ± 0.01c	0.83 ± 0.08c
T ₂	0.53 ± 0.01a	0.69 ± 0.01a	0.81 ± 0.03a	0.86 ± 0.02a	1.22 ± 0.07a
T ₃	0.49 ± 0.01b	0.59 ± 0.01b	0.75 ± 0.02b	0.74 ± 0.02b	0.92 ± 0.01b

同一列中标以不同小写字母的值分别在 5% 水平差异显著。

Values within the same column followed by a different letter are significantly different at 5% (small letter) probability levels, respectively.

烤烟中多酚类物质不仅与烟叶颜色密切相关,而且也是烟草中重要的潜香物质,其含量与烟叶芳香口味是一致的^[2]。不同氮素形态对比对多酚类物质有显著影响,在烤烟生长过程中,总酚、绿原酸、芸香苷的含量均以 T₂ 处理最高,这对烟叶品质的改善有重要意义。尽管影响烤烟多酚类物质含量的因素很多,但对于同一烤烟品种而言,选择适当的栽培措施(氮肥的合理施用)来提高其含量将是烟叶生产中一条重要技术途径。

2.2 氮素形态对多酚氧化酶活性的影响

多酚氧化酶 (PPO) 可催化多酚氧化成醌, 而多酚的含量对烟草的品质有显著影响。PPO 是呼吸链末端氧化酶之一, 在烟株防御保护体系中起重要作用。由图 1 可知, 各处理 PPO 活性的变化规律有较大差异, 处理 T_1 和处理 T_3 的 PPO 活性为一单峰曲线, 活性峰值分别出现在栽后 60 d 和栽后 75 d; 而处理 T_2 多酚氧化酶活性曲线呈现一平滑的先升后降的趋势, 其峰值出现在栽后 60 d, 可能是因为 PPO 参与了多酚物质的氧化。高活性的 PPO 不但使烟株具有较强的抗逆境能力, 而且提高了作物的光合作用和呼吸作用, 促进了优质烟叶的形成。

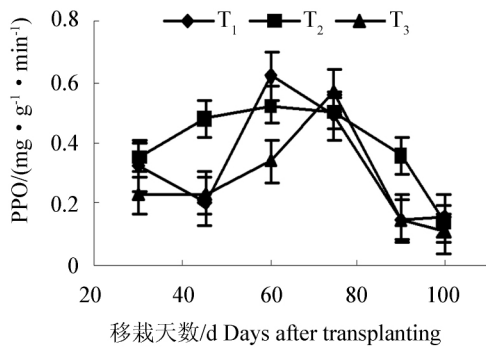


图 1 不同氮素形态对烤烟 PPO 活性动态的影响
Fig.1 Effects of different nitrogen forms on the PPO activity of flue - cured tobacco

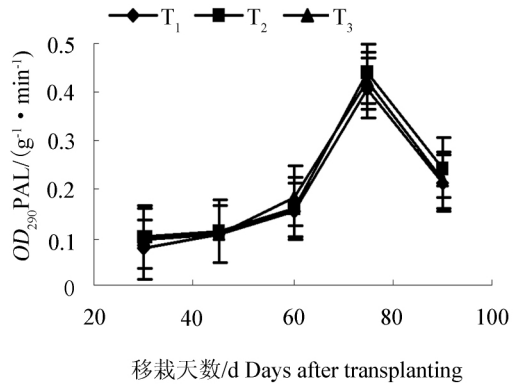


图 2 不同氮素形态对烤烟 PAL 活性动态的影响
Fig.2 Effects of different nitrogen forms on the PAL activity of flue - cured tobacco

2.3 氮素形态对苯丙氨酸解氨酶活性的影响

苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 主要催化由苯丙氨酸到各种酚类物质的第一步反应, 是酚类物质代谢的关键酶和限速酶^[24]。由图 2 可知, 各处理之间 PAL 活性没有明显差异; PAL 活性从移栽后 30 d 缓慢增强, 到栽后 75 d 达到最大, 之后其活性又迅速下降, 可能是参与了酚类物质代谢的缘故; 处理 T_2 略高于处理 T_1 和处理 T_3 。表明在移栽后 30 ~ 75 d, 适当增加铵态氮比例, PAL 活性增加较快, 有利于合成绿原酸和芸香苷等酚类物质; 在移栽 75 d 后, 施用 75% 铵态氮 + 25% 硝态氮不利于 PAL 活性的提高。以硝态氮与铵态氮比例 1:1 时, 酚类物质含量和 PAL 活性较高, 可能有利于合成较多的多酚类物质。

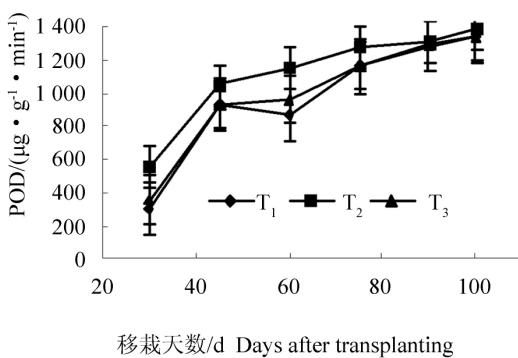


图 3 不同氮素形态对烟叶 POD 活性动态的影响
Fig.3 Effects of different nitrogen forms on the POD activity of flue - cured tobacco

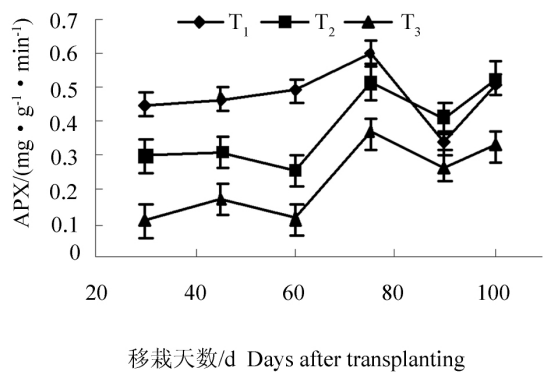


图 4 不同氮素形态对烟叶 APX 活性的动态影响
Fig.4 Effects of different nitrogen forms on the APX activity of flue - cured tobacco

2.4 不同氮素形态对过氧化物酶活性的影响

植物组织衰老会产生大量活性氧自由基, 但同时植物可通过产生抗坏血酸等非酶抗氧化剂或过氧化物酶 (POD) 等氧化还原酶来降低细胞内活性氧水平^[25], 抑制膜脂过氧化作用, 减缓衰老并增加烟叶自身防御功能。由图 3 可知, 在整个生长成熟过程中, 处理 T_2 的 POD 活性呈持续上升趋势; 处理 T_1 和处理 T_3 的 POD 活性, 除栽后 45 ~ 60 d 这段时间呈下降趋势, 其它阶段都呈上升趋势, POD 活性表现为处理 T_2 > 处理 T_3 > 处理 T_1 。适量增加铵态氮比例可提高 POD 活性, 比例过高则会产生相反的作用。

移栽 45 d 后, T_2 处理 POD 活性处于平稳上升的阶段, 随着叶片成熟衰老的继续进行, POD 活性迅速降低, 活性氧因无法消除而大量积累, 这说明烤烟适应体内活性氧增加的自我调节能力是有限的。

2.5 不同氮素形态对抗坏血酸氧化酶活性的影响

抗坏血酸是植物体内的一种抗氧化剂, 而抗坏血酸氧化酶 (APX) 能把抗坏血酸氧化变为氧化型抗坏血酸, 使其失去作为抗氧化剂的功能。图 4 表明, 处理 T_1 、处理 T_2 和处理 T_3 的 APX 活性变化规律大体上都呈现先升后降再升的趋势, 可能是烤烟适应体内活性氧积累的一种调节反应。移栽 75 d 之前, 处理 T_1 抗坏血酸氧化酶活性高于处理 T_2 , 处理 T_2 高于处理 T_3 ; 在移栽后 75 d 活性达到峰值而后有所降低, 其活性表现为处理 $T_2 > T_1 > T_3$ 。在生育前期, APX 的活性随着施用肥料铵态氮比例的增加而增强; 中后期增加硝态氮比例其活性会增加, 生理代谢的活跃程度较大, 但 75% 硝态氮 + 25% 铵态氮会使其活性降低。在移栽后 60 ~ 75 d, APX 活性上升非常明显, 这 15 d 是烟叶步入成熟的最关键时期, 适当增加硝态氮比例以增强抗坏血酸含量可能有助于减缓烟叶的衰老。

3 结论与讨论

通过矿质营养来调控烟株的代谢, 则氮元素的不平衡会影多酚类化合物在烟株中的积累。William 等^[26]研究指出, 绿原酸和芸香苷的含量随氮肥施用量的增加而降低; 而 Tso 等^[6]指出, 绿原酸、芸香苷的含量随施氮量的增加而增加, 与 William 等的研究结果产生矛盾。不同形态的氮素对烟草中多酚类物质含量也有较大影响, Sheen 等^[27]指出, 在高硝态氮溶液中生长的烟株比在高铵态氮生长的烟株多酚类物质含量高。本文研究结果与 Sheen 等基本一致。

铵态氮对烤烟的抑制作用产生的机理是可供烤烟吸收的硝态氮缺乏而并非铵态氮过多^[28]。施入土壤中的铵态氮或硝态氮很快被硝化, 但在配施硝化抑制剂 DCD 的条件下, 可抑制氮的转化时间达 2 个月^[29]。本试验中, 烤烟在 75% 铵态氮 + 25% 硝态氮肥、50% 铵态氮 + 50% 硝态氮、25% 铵态氮 + 75% 硝态氮肥 3 种不同条件下, 配合施用硝化抑制剂 DCD, 其对烟叶多酚及酶活性有不同的影响。烤烟生长过程中, 多酚及相关酶活性的变化能调节烤烟香气形成过程, 进而影响烟叶香气质量。随着生育期的推进, 烤烟在实施“氮肥后移”时选用适宜的氮素形态, 就可能通过影响烤烟多酚及相关酶活性来调控烤烟质量, 为优质烟叶生产提供另一条有效途径。

PPO、POD、多酚类物质可构成一个体系, 表现出植物对逆境或成熟及衰老进程的反应, 这就造成植物在吸收利用硝态氮的过程中, 会消耗更多的能量, 对生长不利。本试验中适当增加硝态氮比例, 能明显提高烤烟绿原酸、芸香苷多酚物质的含量, 铵态氮与硝态氮比例为 1:1 效果较明显; 烤烟酶活性随硝态氮肥比例增加有下降的趋势, 铵态氮与硝态氮比例为 1:1 时多酚物质的消长动态中其合成代谢比氧化分解代谢强, 相关酶 POD、PAL、PPO、APX 活性有较大提高。这可能因为硝态氮是一种较铵态氮耗能的无机氮源, 它的不合理施用易造成氮肥的流失及植物体内硝酸盐的积累, 而铵态氮的过量施用有可能抑制植物对 K 与 Ca 的吸收, 引起植物体内多方面代谢失调, 使植物发生铵中毒^[30]。本研究认为, 延边烤烟应吸收不同氮素形态, 因为烤烟吸收高度氧化态的硝态氮后, 只有通过还原作用转化为铵态氮才能参与代谢过程。硝态氮比铵态氮更容易被烟株吸收和利用, 有利于促进烟叶早期的生长。烤烟生长中后期应有效控制土壤氮素形态配比, 进而调控多酚类物质及 POD、PPO、APX 活性, 有利于减轻贪青晚熟乃至黑暴烟形成。

延边地区烤烟生长中后期铵态氮和硝态氮氮素比例为 1:1 的多酚类物质积累量较高, 抗坏血酸氧化酶含量、POD 和 PPO 活性均较高, 说明烤烟多酚合成酶系统和抗衰老氧化酶系统在氮素形态及配比上存在差异。氮素形态对多酚的积累与酶活性的提高有密切关系, 烤烟同时供给铵态氮和硝态氮能促进烟株生长, 协调烤烟绿原酸、芸香苷物质含量及 POD、PAL、PPO、APX 活性, 也能提高烟叶香气质量和改善香气风格。无论是硝态氮还是铵态氮对烟株生理生化过程都有不同程度的影响, 对烟草品质的形成各有贡献, 因此必须掌握一个合适的比例, 而这个比例要有不同生态条件的限制, 其最佳形态配比应随生育期的不同而变化。本试验初步表明, 硝态氮与铵态氮比例可能是氮肥条件下改善烤烟香吃味的前提, 烤烟发育中后期 POD、PAL、PPO、APX 活性较高可能是氮肥条件下延边烤烟品质较高的生理基础。但氮肥比例促进烤烟品质形成的具体生理机制尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 官长荣, 王爱华, 王松峰. 烟叶烘烤过程中多酚类物质的变化与化学成分的相关分析[J]. 中国农业科学, 2005, 38(11): 2316 - 2320.
- [2] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [3] 左天觉. 烟草的生产、生理和生物化学[M]. 朱尊权, 译. 上海: 远东出版社, 1993.
- [4] 阎新甫, 韩锦峰. 烟草多酚类化合物的研究进展[J]. 华北农学报, 1987, 25(2): 31 - 38.
- [5] 徐晓燕, 孙五三. 烟草多酚类化合物的合成与烟叶品质的关系[J]. 中国烟草科学, 2005, 24(1): 3 - 5.
- [6] Tso T C. Physiology and biochemistry of tobacco plants[J]. Stroudsburg: Dowden, Hutchinson and Ross Inc, 1972: 259 - 271.
- [7] 王怀珠, 杨焕文, 郭红英. 烘烤过程中温湿度对烤烟淀粉降解及相关酶活性的影响[J]. 作物学报, 2006, 32(2): 313 - 316.
- [8] 王昇, 谢复炜, 吴鸣, 等. 多酚在白肋烟生长、采收、调制过程中的变化研究[J]. 中国烟草学报, 2004, 10(5): 1 - 7.
- [9] 杨虹琦, 周翼衡, 郭紫明, 等. 湖南不同烟区烤烟中绿原酸和芸香苷的研究[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2005, 31(6): 616 - 619.
- [10] 柴家荣, 李天飞, 杨宏光, 等. 白肋烟 TN86 凉制期 PPO、POD 活性及总酚、类黄酮类含量动态研究[J]. 中国烟草科学, 2003, 24(1): 31 - 33.
- [11] 陈建军, 吕爱华. 采收方法对烤烟植株上部叶烘烤特性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(2): 221 - 224.
- [12] Vaughn K C, Lax A R. Polyphenol oxidase: The chloroplast enzyme with no established function[J]. Physiology Plant, 1988, 72(3): 659 - 665.
- [13] 王卫峰, 王松峰, 陈江华, 等. 装烟密度对烟叶烘烤过程中几种抗氧化酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(5): 817 - 820.
- [14] 张延春, 陈治锋, 龙怀玉, 等. 不同氮素形态及比例对烤烟长势、产量及部分品质因素的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(6): 787 - 792.
- [15] 艾绶龙. 氮素形态及配比对烤烟生长和品质的影响[J]. 西北农业学报, 2003, 12(2): 80 - 82.
- [16] 张新要, 姜占省, 李天福, 等. 不同饼肥用量和氮素形态配比对烤烟产质量的影响[J]. 土壤通报, 2006, 37(1): 867 - 870.
- [17] 李春俭, 张福锁, 李文卿, 等. 我国烤烟生产中的氮素管理及其与烟叶品质的关系[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(2): 331 - 337.
- [18] 王瑞新. 烤烟化学品质分析法[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1998.
- [19] Snook M E, Mason P F, Sisson V A. Polyphenols in the *Nicotiana* Species[J]. Tob Sci, 1986, 30(18): 43 - 51.
- [20] YC/T 202 - 2006. 烟草及烟草制品多酚类化合物绿原酸、茛菪亭和芸香苷的测定[S]. 2006.
- [21] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [22] 白宝璋. 植物生理学——测试技术[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993.
- [23] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 2 版. 北京: 北京高等教育出版社, 1993: 154 - 155.
- [24] Pauls, Wachira F N, Powell W, et al. Diversity and genetic differentiation among populations of Indian and Kenyan tea [*Camellia Sinensis* (L) O. kountze] revealed by AFLP markers[J]. Theor Appl Genet, 1997, 94(2): 255 - 263.
- [25] 张建光, 李英丽, 邸葆, 等. 外源物质处理对高温胁迫下苹果果实抗氧化能力的影响[J]. 华北农学报, 2004, 19(3): 55 - 58.
- [26] Williams C, Elliot J M. Influence of nitrogen, phosphorus, potassium and magnesium on the phenolic constituents of flue-cured tobacco[J]. Can J Plant Sci, 1978, 58(5): 543 - 548.
- [27] Sheen S T, Calvert J, Rebagray G R. Effect of nitrogen fertilization on polyphenol content and oxidase activities in tobacco seedlings[J]. Crop Sci, 1988, 9(2): 547 - 550.
- [28] Walch Liu P, Neumann G, Bangerth F, et al. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco[J]. J Exper Bot, 2000, 51(343): 227 - 237.
- [29] 徐星凯, 周礼恺, Cleemput O V. 脲酶抑制剂/硝化抑制剂对土壤中尿素氮转化及形态分布的影响[J]. 土壤学报, 2000, 37(3): 339 - 345.
- [30] 李霞, 阎秀峰, 刘剑锋. 氮素形态对黄檗幼苗生长及氮代谢相关酶类的影响[J]. 植物学通报, 2006, 23(3): 255 - 261.