

烤烟打顶后不同部位烟叶碳氮代谢关键酶活性的动态变化及相关分析

吕中显 赵铭钦* 赵进恒 张迪 张学杰 刘洪华

(河南农业大学 烟草学院 河南 郑州 450002)

摘要:通过对不同部位烤烟烟叶打顶时以及打顶后 10 d、20 d、30 d 的硝酸还原酶、淀粉酶和转化酶活性变化规律进行研究,结果表明:(1)打顶时到打顶后 20 d 上部烟叶中硝酸还原酶活性高于中、下部烟叶,中、下部烟叶中硝酸还原酶活性从打顶时到打顶后 10 d 迅速升高。(2)三个部位烟叶中淀粉酶活性总体都呈上升趋势,打顶时淀粉酶活性都很低并基本相同,中部和上部烟叶淀粉酶活性分别在打顶后 10 d 和打顶后 20 d 有一个峰值。(3)整个时期内上部烟叶中转化酶活性始终大于中、下部烟叶,中、下部烟叶中转化酶活性呈一直下降趋势,下部烟叶的下降速率大于中部烟叶。(4)上部烟叶中淀粉酶活性与硝酸还原酶、转化酶活性均呈显著负相关,中部烟叶和下部烟叶中淀粉酶活性与转化酶活性达显著负相关水平。

关键词:烤烟;碳氮代谢;酶活性;动态变化;相关分析

中图分类号:S752.01 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2010)04-0700-05

Dynamic Changes of Activities of Key Enzymes in Carbon and Nitrogen Metabolism in Flue-cured Tobacco of Different Positions after Topping and Correlation Analysis

LV Zhong-xian ZHAO Ming-qin* ZHAO Jin-heng,
ZHANG Di ZHANG Xue-jie LIU Hong-hua

(College of Tobacco, Henan Agriculture University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The variations of activities of nitrate reductase, amylase and invertase in the flue-cured tobacco leaves in different positions at topping and 10 d, 20 d, 30 d after topping were studied. The results showed that: 1) From topping to 20 d after topping, the activity of nitrate reductase in the upper leaves was higher than that in the cutters and lower leaves. From topping to 10 d after topping, the activity of nitrate reductase in the cutters and lower leaves rose rapidly. 2) The activity of amylase of tobacco leaves in the 3 positions decreased during the whole stage in general and was very low and similar to that at topping. There was a peak activity value of amylase in the cutters and upper leaves 10 d after topping and another 20 d after topping respectively. 3) The activity of invertase in the upper leaves was higher than that in the cutters and the lower leaves during the whole stage. The activity of invertase in the cutters and lower leaves showed continuous declining trend and the declining speed in the lower leaves was larger than in the cutters. 4) The activity of amylase was correlated significantly and negatively with the activity of nitrate reductase and invertase in the upper leaves. There was also an obvious negative correction between the activity of amylase and that of invertase.

收稿日期:2010-03-16 修回日期:2010-05-12

基金项目:国家烟草专卖局重大科技攻关项目(110200401004)

作者简介:吕中显(1984-),男,硕士生,主要从事烟草科学研究,E-mail:laolv19841122@163.com;* 通讯作者:赵铭钦,教授,博士,E-mail:mqzhao999@tom.com。

Key words: flue-cured tobacco; carbon and nitrogen metabolism; enzymes activity; dynamic change; correlation analysis

碳氮代谢是烤烟植株最基本的代谢过程,碳氮代谢强度、协调程度及其在烟叶生长和成熟过程中的动态变化模式直接或者间接影响烟叶各类化学成分的含量和组成比例,对烟叶品质产生重大影响^[1]。烟株碳氮代谢的平衡协调程度是影响烟叶品质优劣的重要因素之一^[2],刘卫群等^[3]研究表明不同部位烟叶氮碳代谢可以同时调节,向合理的方向转化。打顶后成熟期是决定烟叶品质的重要时期,加强烟田后期管理,对提高烟叶的产质量具有十分重要的作用。目前关于碳氮代谢关键酶对不同条件响应的差异变化规律研究较多,而专门对打顶后碳氮代谢关键酶的动态变化规律研究未见报道。本文就打顶后不同时期叶片碳氮代谢几个关键酶活性进行测定,以探讨烟叶上、中、下3个部位叶片碳氮代谢关键酶的动态变化规律,并进一步分析所测指标间的相关性,为优质烟栽培措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2008年在河南省南阳市方城县进行,供试品种为云烟87。土壤质地为沙壤土,土层深厚,土壤pH 7.3,有机质含量12.8 g/kg,碱解氮62.8 mg/kg,有效磷(P_2O_5)含量10.1 mg/kg,有效钾(K_2O)含量132.6 mg/kg。施用氮肥52.5 kg/hm², $m(N):m(P_2O_5):m(K_2O) = 1:2:3$ 。打顶时及打顶后每隔10 d分别取上(3-5叶位)、中(10-12叶位)、下(18-20叶位)3个部位烟叶进行叶片碳氮代谢相关酶活性的测定,共取样4次。

1.2 测定项目与方法

硝酸还原酶活性的测定参照朱广廉方法^[4];淀粉酶活性的测定采用3,5-二硝基水杨酸比色法^[5-6];转化酶活性的测定参照何钟佩方法^[7]。每个处理3次重复测定,取平均值,以鲜质量测定。实验数据采用DPS6.55版本处理。

2 结果与分析

2.1 打顶后不同部位烟叶硝酸还原酶活性的动态变化

表1 不同时期硝酸还原酶活性方差分析

Tab.1 Variance analytical table of activity of Nitrate reductase at different time

部位 Position	时期 Time	上部叶 Upper leaf	中部叶 Middle leaf	下部叶 Lower leaf
硝酸还原酶 Nitrate reductase	打顶时	18.745 1aA	3.302 5bB	2.782 2bB
	10 d	13.258 6bB	8.812 6aA	6.116 7aA
	20 d	3.136 9cC	2.782 2cB	2.853 2bB
	30 d	1.292 3dD	0.795 7dC	0.535 6cC

表中小写字母表示0.05的差异显著性水平,大写字母表示0.01的差异显著性水平。

Small letters mean significance at 0.05 levels, capital letters mean significance at 0.01 levels.

由表1可以看出,除了下部烟叶在打顶时和打顶后20 d硝酸还原酶活性无显著性差异外,各部位烟叶在打顶后不同时期的硝酸还原酶活性都达到了显著性差异水平,说明打顶后烟叶中硝酸还原酶活性都处于较大的动态变化之中。从图1可以看出打顶后不同时期各部位烟叶硝酸还原酶活性的变化规律不尽相同。从打顶到打顶后20 d上部烟叶中硝酸还原酶活性始终大于中部叶和下部叶,之后各

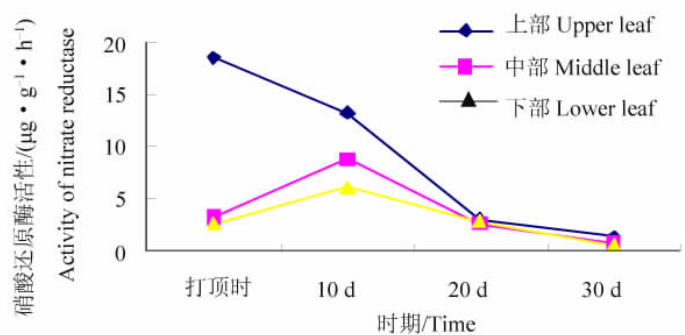


图1 不同部位烟叶中打顶后硝酸还原酶活性的变化
Fig.1 Changes of activity of nitrate reductase for tobacco leaves of different positions after topping

部位活性降低趋于相同,说明上部烟叶氮代谢强度在打顶后 20 d 之前大于中、下部叶,这可能与上部烟叶比中、下部烟叶晚熟有关。Weybrew^[8] 研究认为:硝酸还原酶(NR) 可用来估测植株的氮代谢水平,其活性高低与叶中淀粉的积累呈密切负相关,烟株 NR 活性降低间接说明烟株淀粉的积累代谢增强。上部烟叶在打顶时硝酸还原酶活性远远大于中、下部叶,呈一直下降趋势,打顶后 10 ~ 20 d 下降速度最快,占整个过程下降幅度的 56%,因此上部烟叶淀粉的积累代谢强度大于中下部叶。中、下部烟叶硝酸还原酶的变化规律基本一致,都是先上升后下降,在打顶时 2 个部位中硝酸还原酶活性基本相同,在打顶后 10 d 时达到最大值,从打顶到打顶后 10 d 硝酸还原酶活性明显增强,中部叶上升速率大于下部叶,这可能是打顶后短期内中、下部烟叶吸收的氮素增加,导致氮代谢加强。

2.2 打顶后不同部位烟叶淀粉酶活性的动态变化

表 2 不同时期淀粉酶活性方差分析

Tab.2 Variance analytical table of activity of amylase at different time

部位 Position	时期 Time	上部叶 Upper leaf	中部叶 Middle leaf	下部叶 Lower leaf
淀粉酶 Amylase	打顶时	2.077 8aA	1.795 7aA	2.002 2bA
	10 d	3.483aA	4.691 9aA	3.180 8abA
	20 d	4.712aA	4.389 7aA	3.956 5abA
	30 d	4.601 2aA	4.984aA	4.832 9aA

表中小写字母表示 0.05 的差异显著性水平,大写字母表示 0.01 的差异显著性水平。

Small letters mean significance at 0.05 levels, capital letters mean significance at 0.01 levels.

由表 2 可以看出,除了下部烟叶在打顶时和打顶后 30 d 淀粉酶具有显著性差异外,各部位烟叶在打顶后不同时期淀粉酶活性无显著性差异。打顶后不同部位烟叶中淀粉酶活性变化如图 2 所示,不同部位烟叶中淀粉酶活性变化规律不同。从打顶后整个时期来看,三个部位烟叶淀粉酶活性呈上升趋势,其活性在打顶时都相对最低并且基本相同,而在打顶后 30 d 都相对较高并基本相同,说明打顶时各部位烟叶生理不成熟都处于淀粉积累期,打顶后 30 d 淀粉分解代谢都较强。下部烟叶淀粉酶活性从打顶时到打顶后 30 d 呈一直上升趋势,说明下部烟叶由淀粉积累进入淀粉分解的时期要早,这与下部烟叶成熟的早相一致。中部烟叶从打顶到打顶后 10 d 淀粉酶活性快速增强,10 ~ 20 d 略微下降,20 ~ 30 d 又上升,因此在 10 d 处形成峰值。上部烟叶从打顶到打顶后 20 d 淀粉酶活性快速增强,20 ~ 30 d 下降,因此在 20 d 处形成峰值。史宏志等^[9] 研究表明,在烟叶生长成熟过程中,烟叶中淀粉酶活性变化呈双峰曲线,峰值分别出现在叶片功能盛期和成熟期。中部叶淀粉酶活性的峰值(10 d)早于上部叶(20 d),说明中部叶淀粉酶活性在打顶前期强于上部叶,淀粉分解代谢要强于上部叶,可能与中部叶比上部叶生理成熟期早有关。

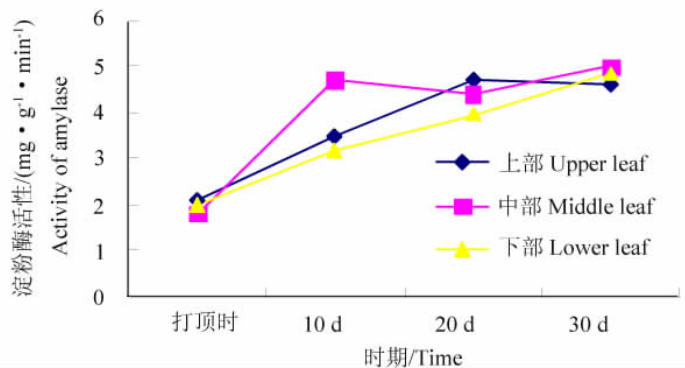


图 2 不同部位烟叶中打顶后淀粉酶活性的变化

Fig.2 Changes of activity of amylase for tobacco leaves of different positions after topping

2.3 打顶后不同部位烟叶转化酶活性的动态变化

由表 3 可以看出上部叶中转化酶活性在 10 d 和 30 d 时无显著性差异,中部叶在 20 d 和 30 d 时无显著性差异,下部叶在 10 d、20 d、30 d 时都无显著性差异。如图 3 所示,整个时期内,上部烟叶中转化酶活性始终大于中、下部烟叶,说明上部烟叶碳代谢强度大于中、下部烟叶,可能是上部烟叶晚熟并且在大田中接受阳光更充足而有利于进行光合作用。中、下部烟叶中转化酶活性呈一直下降趋势,打顶 20 d 之后基本下降至最低保持不变,下部烟叶的下降速率大于中部烟叶,这可能与下部烟叶比中部烟叶早熟有关。上部烟叶中转化酶活性先快速下降后缓慢下降最后缓慢上升。上部烟叶打顶后 10 d 内转化酶活性快速下降可能与打顶人为改变代谢方向有关,打顶后 20 ~ 30 d 转化酶活性又有所上升,这

可能是中、下烟叶已经成熟将养分更多的供给上部烟叶导致碳代谢增强。

2.4 打顶后不同部位烟叶碳氮代谢关键酶活性动态变化的相关性分析

转化酶(Inv)与烟叶碳的固定和转化代谢关系密切,Inv和NR活性的比值能表示碳氮代谢的相对强度^[10]。左天觉^[11]指出,优质烟叶必须有碳水化合物和含氮化合物之间的平衡和协调。Weybrew等^[12]指出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。因此对不同时期烟叶中的各种碳氮代谢关键酶活

性进行相关性分析,找出烟叶中各种酶之间的协调作用关系,能够指导烟叶种植管理。打顶时、打顶后10 d、20 d、30 d 4个时期烟叶中碳氮代谢关键酶的动态变化相关性分析如表4所示,上部烟叶中淀粉酶与硝酸还原酶、转化酶均呈负相关,相关系数分别为 $r_{0.01} = -0.97^{**}$, $r_{0.05} = -0.92^*$;中部烟叶和下部烟叶中都是只有淀粉酶与转化酶达显著负相关水平,相关系数分别为 $r_{0.05} = -0.93^*$; $r_{0.05} = -0.88^*$ 。

表3 不同时期转化酶活性方差分析

Tab.3 Variance analytical table of activity of Invertase at different time

部位 Position	时期 Time	上部叶 Upper leaf	中部叶 Middle leaf	下部叶 Lower leaf
转化酶 Invertase	打顶时	13.483 4aA	5.858 9aA	7.444aA
	10 d	3.932 7bB	2.387 7bB	0.983 2bB
	20 d	1.866cC	0.622cC	0.421 4bB
	30 d	4.033bB	0.0803cC	0.088 6bB

表中小写字母表示0.05的差异显著性水平,大写字母表示0.01的差异显著性水平。

Small letters mean significance at 0.05 levels, capital letters mean significance at 0.01 levels.

表4 不同部位烟叶打顶后碳氮代谢关键酶动态变化的相关性

Tab.4 Correlation of activities of key enzymes of carbon and nitrogen metabolism in flue-cured tobacco of different positions after topping

	上部叶 Upper leaf			中部叶 Middle leaf			下部叶 Lower leaf		
	硝酸还原酶 Nitrate reductase	转化酶 Invertase	淀粉酶 Amylase	硝酸还原酶 Nitrate reductase	转化酶 Invertase	淀粉酶 Amylase	硝酸还原酶 Nitrate reductase	转化酶 Invertase	淀粉酶 Amylase
硝酸还原酶 Nitrate reductase	1.0	0.8	-0.97**	1.0	0.26	0.08	1.0	0.02	-0.49
转化酶 Invertase	0.8	1.0	-0.92*	0.26	1.0	-0.93*	0.02	1.0	-0.88*
淀粉酶 Amylase	-0.97**	-0.92*	1.0	0.08	-0.93*	1.0	-0.49	-0.88*	1.0

* 和 ** 分别表示 t 测验在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。

* and ** indicate significant differences of T test at 0.05 and 0.01 level respectively.

3 结论与讨论

跟踪主要代谢(碳、氮代谢)途径代谢酶的活动,及时了解烟株体内生理状况,是及时了解施肥效果、估计烟叶品质的重要方法^[13]。史宏志等^[14]研究表明不同部位的烟叶硝酸还原酶活性动态变化具有不同的特征。硝酸还原酶是氮代谢的关键酶和诱导酶,其活性高低反映了植株营养状况和氮代谢水平^[15]。本试验结果表明,打顶时到打顶后20 d上部烟叶硝酸还原酶活性始终强于中、下部烟叶,打顶

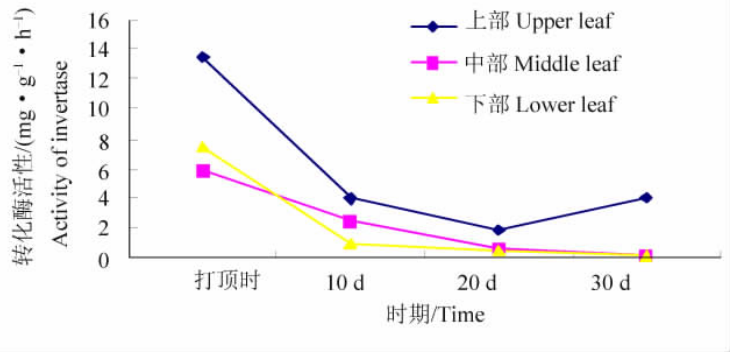


图3 不同部位烟叶中打顶后转化酶活性的变化
Fig.3 Changes of activity of amylase for tobacco leaves of different positions after topping

20 d 后 3 个部位中硝酸还原酶活性降低并趋于相同,说明上部烟叶氮代谢强度在打顶后大于中、下部烟叶;中、下部烟叶中硝酸还原酶活性在打顶后 10 d 内明显增强,可能是由于打顶后中、下部烟叶吸收氮素增加导致氮代谢增强。

淀粉酶是碳水化合物代谢中的重要酶类,可将叶绿体中积累的淀粉转化为单糖,因而直接关系到烟叶中淀粉的积累量。本试验中 3 个部位烟叶中的淀粉酶都总体呈上升趋势,打顶时淀粉酶活性都很低并基本相同,说明此时 3 个部位烟叶都未达到生理成熟。中部和上部烟叶分别在打顶后 10 d 和打顶后 20 d 有一个峰值,可能是中部烟叶比上部烟叶成熟早导致淀粉分解代谢提前。

转化酶与植物的碳代谢密切相关,可催化细胞质中蔗糖转化形成单糖,促进叶绿体中磷酸丙糖向外运转,使叶绿体中淀粉积累减少,光和碳固定过程加强。烟叶碳水化合物的积累代谢与碳的固定和转化代谢表现相反的趋势^[1],烟株 INV 活性降低说明烟株碳水化合物的积累代谢增强。在甘蔗等其它作物上,已将其活性作为衡量碳代谢强度的重要指标^[16]。史宏志等^[9]研究表明,转化酶活性在叶片功能盛期后逐渐降低,随着施氮水平的提高,转化酶活性提高。本试验中,整个时期内,上部烟叶中转化酶活性始终大于中、下部烟叶,中、下部烟叶中转化酶活性呈一直下降趋势,下部烟叶的下降速率大于中部烟叶。

由烟叶打顶后不同时期碳氮代谢关键酶动态变化的相关分析表明,上部烟叶中淀粉酶与硝酸还原酶、转化酶均呈负相关,中部烟叶和下部烟叶中都是只有淀粉酶与转化酶达显著负相关水平。

参考文献:

- [1] 史宏志, 韩锦峰. 烤烟碳氮代谢几个问题的探讨[J]. 烟草科技, 1998(2): 34-36.
- [2] 唐经祥, 何厚民, 姜理论. 关键农业技术措施对烤烟上部叶外观质量及经济性状的影响[C]//中国烟叶学术论文集. 北京: 科学技术出版社, 2004: 107-109.
- [3] 刘卫群, 陈良存, 甄焕菊, 等. 烟叶成熟过程中碳氮代谢关键酶对追施氮肥的响应[J]. 华北农学报, 2005, 20(3): 74-78.
- [4] 朱广廉, 钟海文. 植物生理学试验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1988: 45-63.
- [5] 华东师范大学生物系. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 人民教育出版社, 1980: 34-47.
- [6] 王瑞新, 韩富根, 杨素勤, 等. 烟草化学品质分析[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1998: 52-70.
- [7] 何钟佩. 农作物活血控制实验指导[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1992: 54-68.
- [8] Weybrew J A, Wolt W G. Production factors affecting chemical properties of the flue-cured leaf(IV): Influence of management and weather[J]. Tob Int, 1975, 177(6): 46.
- [9] 史宏志, 韩锦峰, 赵鹏. 不同氮量与氮源下烤烟淀粉酶和转化酶活性动态变化[J]. 中国烟草科学, 1999(3): 5-8.
- [10] 刘卫群, 陈良存, 徐鑫丽. 硝酸铵追肥对生长后期 NC89 叶片中硝酸还原酶和转化酶活性的影响[J]. 烟草科技, 2005(8): 35-37.
- [11] 左天觉. 烟草的生产、生理和生物化学[M]. 上海: 上海远东出版社, 1993: 367-374.
- [12] Weybrew J A, Wanismai W A, Long R C. The cultural management of flue-cured tobacco quality[J]. Tobacco International, 1983, 185(10): 82-87.
- [13] 李建伟, 郑少清, 石俊雄, 等. 不同氮素形态组合对烟叶硝酸还原酶和酸性转化酶的影响[J]. 耕作与栽培, 2003(2): 51.
- [14] 史宏志, 李志, 刘国顺, 等. 皖南焦甜香烤烟碳氮代谢差异分析及糖分积累变化动态[J]. 华北农学报, 2009, 24(3): 144-149.
- [15] 方昭希, 王明录, 彭代平, 等. 硝酸还原酶活性与氮素营养的关系[J]. 植物生理学报, 1979, 5(2): 123-128.
- [16] 李玉潜, 谢九生, 谭中文. 甘蔗叶片碳、氮代谢与产量、品质关系研究初探[J]. 中国农业科学, 1995, 28(4): 46-53.