

成熟期短时渍水胁迫对烤烟碳氮代谢关键酶及主要碳、氮化合物含量的影响

李祖良¹, 刘国顺¹, 腊贵晓¹, 何川¹, 赵华武¹, 翟欣²

(1. 国家烟草栽培生理生化研究基地, 河南农业大学烟草学院, 河南 郑州 450002;

2. 贵州省烟草公司毕节地区公司, 贵州 毕节 551700)

摘要:以烤烟云烟97为材料, 采用田间试验研究了成熟期短时渍水处理对烤烟碳氮代谢关键酶活性及主要碳、氮化合物含量的影响。结果表明, 在烤烟成熟期渍水处理3 d, 中部叶片硝酸还原酶活性低于对照, 降幅为20.39%; 转化酶和淀粉酶活性高于对照, 增幅分别为33.14%、56.70%; 烟叶淀粉、总氮和烟碱含量有降低趋势, 分别下降了2.90、0.74、0.77个百分点, 而总糖和还原糖含量有增加趋势, 分别上升了1.33、0.46个百分点。说明渍水胁迫使叶片生理代谢紊乱, 氮代谢减弱, 碳水化合物积累减少。研究结果有助于从生理生化角度揭示成熟期渍水胁迫对烤烟生长和品质形成影响的机制。

关键词:烤烟; 成熟期; 渍水; 碳氮代谢

中图分类号:S572 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2012)02-0175-05

The Influence on the Key Enzymes of Carbon-nitrogen Metabolism and the Content of the Main Carbonitride at the Maturity of Transitorily Waterlogged Flue-cured Tobacco

LI Zu-liang¹, LIU Guo-shun¹, LA Gui-xiao¹, HE Chuan¹, ZHAO Hua-wu¹, ZHAI Xin²

(1. National Tobacco Cultivation and Physiological and Biochemical Center, College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Bijie Branch of Guizhou Tobacco Company, Bijie 551700, China)

Abstract: A field experiment was conducted to study the effect of transient waterlogging stress on the activity of carbon-nitrogen metabolism key enzymes and the content of the main carbonitride of flue-cured tobacco CV. Yun-yan97 during maturing stage. The results indicated that in the middle leaves of waterlogged flue-cured tobacco at the maturity, after waterlogging treatment for three days, the nitrate reductase activity with the decreased range 20.39% was lower, the invertase and amylase activity with the increased range 33.14% and 56.70% respectively was higher, compared with that in control treatment; the content of starch, total nitrogen and nicotine decreased by 2.90 percent, 0.74 percent and 0.77 percent separately, but the content of total sugar and reducing sugar respectively increased by 1.33 percent and 0.46 percent. The above results showed that the physiological metabolism of flue-cured tobacco at the maturity was disordered, nitrogen metabolism wakened, and the accumulation of carbohydrate decreased under waterlogging stress. The conclusion of the study was beneficial to reveal the mechanism of influence on the growth and quality of mature flue-cured tobacco under waterlogging stress from the physiological and biochemical perspective.

Key words: Flue-cured tobacco; Maturity; Waterlogging; Carbon and nitrogen metabolism

水分在烤烟的生长发育过程中起着至关重要的作用, 参与烟株体内一切代谢过程和烤烟形态建成^[1]。但烤烟对水分非常敏感, 缺乏耐淹防御机制, 烟草较耐旱, 不耐涝, 农谚说“烟怕淹”即由此而

收稿日期: 2011-09-13

基金项目: 贵州省烟草公司毕节地区公司项目(2009A-1)

作者简介: 李祖良(1984-), 男, 江西进贤人, 在读硕士, 主要从事烤烟栽培生理生化研究。

通讯作者: 刘国顺(1954-), 男, 河南叶县人, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草栽培生理生化研究。

来^[2]。每年多数南方烤烟产区的烟叶成熟期(6-7月)都处于雨季,因雨水较多或地势低洼等原因,导致烟田积水不能够及时排出,在一定时间内造成烟田短时间渍水情况的出现。渍水胁迫导致烟草根系生长受阻,水分和矿质元素的吸收、运输能力下降,生理代谢机能紊乱,加快烤烟落黄衰老,降低烟叶产量和品质,严重影响优质烟叶生产^[3-4]。先前的研究多集中在渍水对烤烟生理生化细胞保护酶指标的影响方面^[5-8],而在渍水对烤烟碳氮代谢的研究未见报道。因此,研究了成熟期大田渍水对烤烟碳氮代谢的影响,旨在阐明大田渍水对烟叶生长发育伤害机制,为优质烟叶生产上烟田排水和抗涝研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验基本情况

试验于2009-2010年在贵州省黔西县林泉镇高家锦烟叶基地单元进行。供试土壤为黄壤土,pH值6.52,有机质23.52 g/kg,碱解氮48.13 mg/kg,速效磷23.27 mg/kg,速效钾136.83 mg/kg。供试品种为云烟97,种植行距110 cm,株距55 cm。试验肥料用烟草专用复合肥,基肥施肥方式为穴施,追肥施肥方式为环施,氮素用量为90 kg/hm²,N:P₂O₅:K₂O=1:1:2.5,试验田其他管理措施按照优质烟叶生产技术进行。

1.2 试验设计

试验在自动防雨棚中进行,设2个处理,T:渍水处理,CK:对照。于烤烟成熟期(移栽后75 d)进行垄间灌水,对(T)进行渍水处理,渍水处理保持烟垄间水层深度在20 cm左右(低于20 cm就灌水),连续处理3 d,对照(CK)的土壤相对含水率保持在70%左右,重复3次,按照随机区组排列。

1.3 取样与分析测定方法

分别于渍水0 d开始取样,每隔3 d取样一次,共取5次,每次取样在当天上午9:00进行,每处理选取长势长相、叶面积和成熟度均较一致、具有代表性的3株,取中部叶主脉一侧第11片叶(从下向上数)10 g液氮保存,用于测定烟叶中硝酸还原酶(NR)、转化酶(INV)和淀粉酶活性。取主脉另一侧的叶片于105℃杀青15 min,60℃烘干,用于测定总氮、总糖、还原糖、淀粉、烟碱的含量。

采用活体法测定硝酸还原酶活性^[9],采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定转化酶和淀粉酶活性^[9];采用过氧化氢-硫酸消化,微量凯氏定氮法测定总氮含量^[10];采用蒽酮比色法测定水溶性

总糖和淀粉含量^[11];采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定还原糖含量^[11];烟碱含量按照王瑞新等^[10]的方法测定。

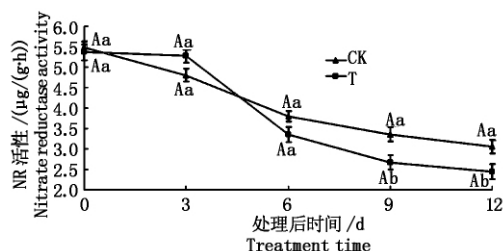
1.4 数据统计与分析

采用DPS7.05和Microsoft Excel 2003软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 渍水对烤烟叶片中NR活性的影响

硝酸还原酶(NR)是植物N代谢的关键酶^[12],其活性除受到体内生理因素及底物NO₃⁻可利用程度的限制外^[13],同时还受到环境因子如水、光、温度等影响,而且对水分状况非常敏感^[14]。由图1可知,不同处理NR活性均随时间的推移而逐渐下降。随着烤烟生长进入成熟期,正常生长的烤烟NR活性表现出先快速下降后缓慢下降,而渍水处理NR活性表现为先缓慢下降后急剧下降再缓慢下降,在3 d时其NR活性高于CK,3 d以后其NR活性又低于CK。渍水后,渍水处理NR活性缓慢下降,在3 d时,其NR活性比CK提高9.79%。3 d以后,渍水处理烤烟叶片NR活性急剧下降,NR活性由3 d时的5.27 μg/(g·h)急剧下降到6 d时的3.35 μg/(g·h)。此后NR活性继续下降,在9 d和12 d时,其NR活性分别比CK低20.39%和20.01%,与CK差异显著。



不同大、小写字母分别表示处理间差异达到0.01、0.05显著水平。The lowercases a, b, c referred to the significant level of 0.05 among treatments; the capital A, B, C referred to the highly significant level of 0.01, the same as the following figure.

图1 渍水对烤烟叶片硝酸还原酶活性的影响

Fig.1 The effect of waterlogging on nitrate reductase activity of flue-cured tobacco leaves

2.2 渍水对烤烟叶片中INV活性的影响

转化酶(INV)与烤烟的碳代谢密切相关^[15]。在甘蔗等其他作物中,已将其活性作为衡量同化产物转移、利用、植物细胞代谢、生长强度以及碳代谢强度的重要指标^[16]。从图2可以看出,随着叶片的生长和成熟,渍水处理和CK烤烟叶片INV活性都表现出降低的趋势,而且随着时间的延长,渍水处理的INV活性下降速度明显慢于CK,表明渍水能诱导INV活性的提高。渍水后,渍水处理INV活性缓慢下降,到3 d时,其INV活性比CK增加33.14%,

与 CK 差异达到显著水平。3 d 以后, 渍水处理 INV 活性迅速下降, 到 6 d 时, 其 INV 活性与 CK 差异不显著。处理后 9 d 和 12 d 时, 渍水处理 INV 活性又呈现缓慢下降趋势, 其 INV 活性分别比 CK 增加 47.19% 和 21.05%。

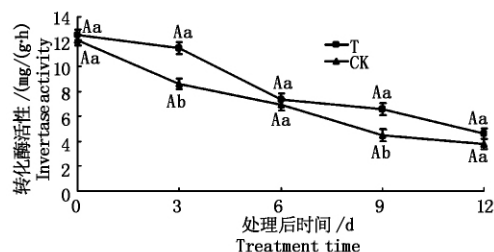


图2 渍水对烤烟叶片转化酶活性的影响

Fig. 2 The effect of waterlogging on invertase activity of flue-cured tobacco leaves

2.3 渍水对烤烟叶片中淀粉酶活性的影响

淀粉酶在碳代谢中起着重要作用, 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, 从而进一步影响整个光合碳固定的强度和其他以单糖分解和转化为基础的代谢过程^[17-18]。渍水对烤烟叶片淀粉酶活性的影响如图3所示, 成熟期正常条件下生长的烤烟, 叶片淀粉酶活性随着生育期的推移总体呈现出降低趋势, 表现出先降低后升高再降低的“S”形变化。而渍水对烤烟叶片淀粉酶活性的影响表现为先快速升高后缓慢降低的单峰曲线变化。渍水淀粉酶活性在渍水后快速升高, 在胁迫3 d时, 达到最大值, 比CK增加56.70%, 与CK差异达到极显著水平。此后, 淀粉酶活性逐渐降低, 但高于CK叶片淀粉酶活性, 在6 d, 9 d, 12 d时, 分别比CK增加31.34%, 14.46%, 13.71%。

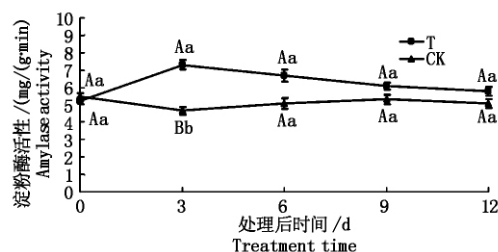


图3 渍水对烤烟叶片淀粉酶活性的影响

Fig. 3 The effect of waterlogging on amylase activity of flue-cured tobacco leaves

2.4 渍水对烤烟叶片总氮、烟碱含量的影响

由图4可知, 随着烤烟进入成熟期, 不同处理烤烟叶片总氮含量呈降低趋势, 但渍水处理总氮含量下降速度比CK快。在渍水3 d时, 渍水处理总氮含量与CK无显著差异。此后, 渍水处理总氮含量逐渐下降, 并且低于CK, 9 d以后, 渍水处理总氮含量快速降低, 到12 d时, 其总氮含量比CK降低了0.74个百分点, 与CK差异极显著。

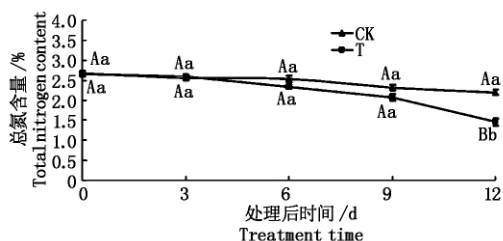


图4 渍水对烤烟叶片总氮含量的影响

Fig. 4 The effect of waterlogging on total nitrogen content of flue-cured tobacco leaves

从图5可以看出, CK烤烟叶片的烟碱含量呈单峰曲线变化, 而渍水处理表现出逐渐上升趋势。在6 d之前, 渍水处理烟碱含量与CK差异不显著, 而到9 d时, 其烟碱含量比CK下降了0.77个百分点, 差异达到极显著水平。此后, 渍水处理烟碱含量迅速升高, 从9 d时的1.84%快速升高到12 d的2.23%。到12 d时, 其烟碱含量与CK差异不显著。

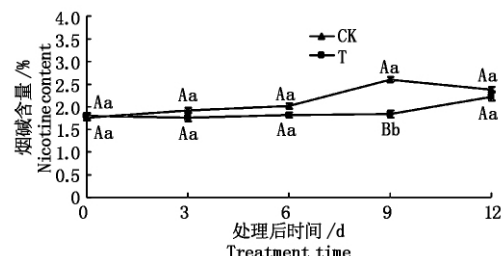


图5 渍水对烤烟叶片烟碱含量的影响

Fig. 5 The effect of waterlogging on nicotine content of flue-cured tobacco leaves

2.5 渍水对烤烟叶片总糖、还原糖、淀粉含量的影响

由图6可知, 进入成熟期后, CK烤烟叶片总糖含量表现为先降低后升高再降低, 而渍水处理总糖含量呈现出先升高后降低的单峰曲线变化。渍水后, 渍水处理总糖含量快速升高, 到3 d时, 达到最大值, 此时, 其总糖含量比CK增加了1.33个百分点, 差异极显著。3 d以后, 其总糖含量缓慢降低, 但在6 d时总糖含量仍比CK增加0.53个百分点。此后总糖含量继续降低, 到12 d时, 其总糖含量微低于CK, 但无显著差异。

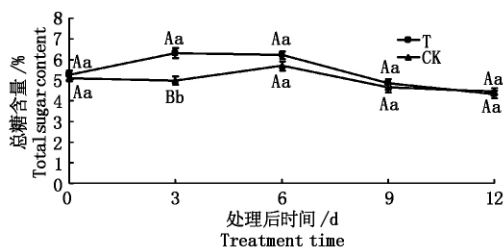


图6 渍水对烤烟叶片总糖含量的影响

Fig. 6 The effect of waterlogging on total sugar content of flue-cured tobacco leaves

从图7可以看出, 随着渍水后时间的持续, 渍水处理和CK叶片还原糖含量变化趋势一致, 都表现

出先降低后升高再降低的“S”形变化。渍水后,渍水处理还原糖含量下降速度比CK慢,在3 d时,其还原糖含量比CK提高了0.46个百分点。3 d之后,各处理还原糖含量升高,6 d之后,各处理还原糖含量又降低,但渍水处理和CK还原糖含量差异不显著。

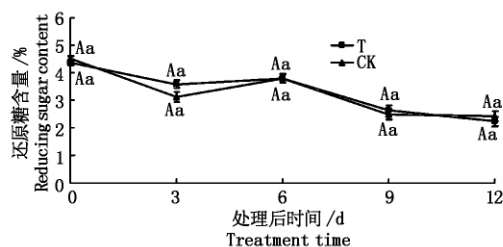


图7 渍水对烤烟叶片还原糖含量的影响

Fig. 7 The effect of waterlogging on reducing sugar content of flue-cured tobacco leaves

图8表明,不同处理淀粉含量都呈下降趋势,但渍水处理淀粉含量下降速度快于CK。渍水后,渍水处理烟叶淀粉含量急剧下降,从0 d时的17.19%下降到3 d时的14.07%,比CK下降了2.9个百分点。此后继续下降,在6,9,12 d时,淀粉含量分别比CK下降了2.86,2.53,2.49个百分点,与CK差异达到极显著水平。

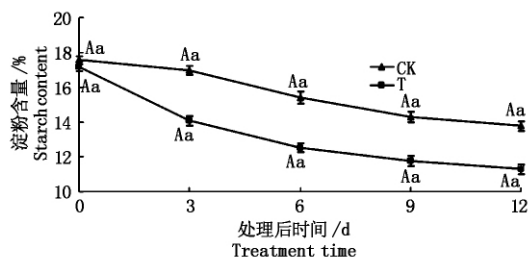


图8 渍水对烤烟叶片淀粉含量的影响

Fig. 8 The effect of waterlogging on starch content of flue-cured tobacco leaves

3 结论与讨论

硝酸还原酶(NR)是植物氮代谢的限速酶,其活性大小对氮代谢的强弱起关键作用,因此,氮代谢强度常用NR活性表示^[19]。从试验结果来看,渍水处理NR活性表现为前期缓慢降低后期迅速降低,3 d前,NR活性缓慢降低而保持了较高的水平,可能是因为在渍水的情况下,NR活性的提高可增强氮同化能力,促进保护酶活性和可溶性糖含量的提高,维持碳氮代谢正常进行,加强烤烟对逆境的防御能力。3 d之后,NR活性迅速降低,由于大田渍水阻碍了烤烟根系与大气环境的气体交换,烟株根系供氧受阻,根系活力下降,呼吸代谢紊乱,能量供应不足^[5,20],NR活性也随之下降,并且低于CK,说明渍水使NR活性降低。

转化酶(INV)与植物的碳代谢密切相关^[17,21],在细胞质中可以水解蔗糖转化形成葡萄糖和果糖,并通过与呼吸作用偶联的氧化磷酸化产生能量,促进光合碳固定能力增强^[22]。本试验结果表明,随着烤烟叶片的生长和成熟,渍水处理和CK烤烟叶片INV活性都不断下降,而且渍水处理INV活性明显高于CK,说明渍水能够诱导INV活性的提高。这是因为在渍水条件下INV活性升高,促进了蔗糖水解成可溶性糖来调节细胞渗透压^[23],使细胞不受胁迫的危害,并维持细胞内代谢的正常进行,提高了烤烟对逆境的适应能力。在前期渍水处理INV活性缓慢下降而且显著高于CK,就是由于烤烟对逆境产生适应性,从而保证了酶合成的顺利进行。在6 d时,由于受到长时间的渍水,导致缺氧而抑制有氧呼吸,使光合作用大大下降^[24],碳代谢减弱,不能给氮代谢提供碳架和能量,氮代谢减弱,酶分解速度大于合成速度,INV活性迅速下降。在9和12 d时,渍水结束后细胞内代谢得到一定的恢复,INV活性又表现出缓慢下降,但其活性高于CK。

淀粉酶可将叶绿体中积累的淀粉转化为单糖,从而间接调节细胞渗透压,使细胞内代谢正常进行。前期淀粉酶活性升高并且远高于CK,这也是植物对逆境的一种应激反应,将淀粉水解成单糖来抵御渍水的胁迫,说明在渍水条件下使淀粉酶活性升高。随后,淀粉酶活性逐渐下降,但还是明显高于CK,说明渍水使烤烟叶片提前由氮代谢转化到碳代谢,加速烤烟叶片工艺成熟并走向衰老死亡,导致烤烟叶片提早落黄,影响烟叶产量和品质。

本试验结果表明,渍水使烟叶的总氮、烟碱、淀粉含量降低,而提高了总糖、还原糖含量。渍水烤烟叶片总氮和烟碱含量在前期与CK无明显差异,后期差异明显。可能是因为前期烤烟叶片硝酸还原酶保持了较高的水平,并且各种应激反应使氮代谢正常进行,保证了烟碱的合成和总氮的水平;而在后期,可能是由于叶片硝酸还原酶活性逐渐降低,氮同化能力下降,氮代谢减弱,而使总氮和烟碱含量下降。而总糖和还原糖含量在渍水以后前期与CK有差异,后期差异不明显。此是为了提高烤烟抵抗渍水胁迫的能力,促使转化酶和淀粉酶水解蔗糖和淀粉形成可溶性糖^[23],所以总糖和还原糖含量升高。渍水结束后,推测可能是由于烤烟叶片碳代谢随着时间的延长而有所恢复,总糖和还原糖含量与CK无明显差异。淀粉含量与CK差异十分明显,并且远低于CK。由于经过渍水后,淀粉粒的降解加快,导致淀粉含量降低^[25]。

综上所述,成熟期渍水短时胁迫使烤烟叶片酶系统发生紊乱,整个代谢活动受到干扰,各种碳、氮代谢化合物的正常生物合成发生了改变,烤烟叶片提早落黄,加快烤烟衰老死亡,影响烤烟产量和品质。因此,在烤烟成熟期时,要特别重视及时排水防积水的工作,以免渍水给烟叶生产带来危害。

参考文献:

- [1] 刘国顺. 烟草栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 212-236.
- [2] 王惠群, 萧浪涛, 刘素纯, 等. 干旱胁迫对烤烟产量和某些化学成分的影响[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2004, 3(5): 59-61.
- [3] 官长荣, 汪耀富. 淹水胁迫对烤烟生理生化特性的影响[J]. 中国农业科学, 1995, 28(增刊): 126-129.
- [4] 蔺万煌, 李艳红, 萧浪涛, 等. 淹水对烟草生理特性的影响[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2001, 27(5): 339-342.
- [5] 毕庆文, 汪健, 杨志晓, 等. 成熟期大田渍水胁迫对烤烟叶片生理特性的影响[J]. 中国烟草学报, 2009, 15(2): 46-49.
- [6] 刘永贤, 曾祥难, 周晓, 等. 水涝胁迫对烟草生理生化特征影响的研究进展[J]. 广西农学报, 2007, 22(1): 32-34.
- [7] 曾淑华, 刘飞虎, 覃鹏, 等. 淹水对烟草生理指标的影响[J]. 烟草科技, 2004(1): 36-38.
- [8] 黎时光, 杨友才, 曾强, 等. 淹水胁迫对烤烟不同生育时期生理生化特性的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(3): 116-119.
- [9] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [10] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [11] 赵世杰, 刘华山, 董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998.
- [12] Guerrero M G, Vega J M, Losada M. The assimilatory nitrate-reducing system and its regulation [J]. Ann Rev Plant Physiol, 1980, 32: 169-204.
- [13] 陈宝明, 王朝辉, 李生秀. 菠菜叶片中硝态氮代谢库的测定[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(2): 124-126.
- [14] Larsson M, Larsson C M, Whitford P N, et al. Influence of osmotic stress on nitrate reductase activity in wheat (*Triticum aestivum* L.) and the role of abscisic acid [J]. J Exp Bot, 1989, 40: 222-228.
- [15] 杜铮, 魏庆华, 刘卫群. 河南省不同地区烤烟碳氮代谢与衰老启动关系的分析[J]. 河南农业科学, 2011, 40(6): 52-55.
- [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.
- [17] 史宏志, 韩锦峰, 赵鹏, 等. 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, 20(3): 5-8.
- [18] 黄树永, 陈良存. 烟草碳氮代谢研究进展[J]. 河南农业科学, 2005(4): 8-11.
- [19] 岳红宾. 不同氮素水平对烟草碳氮代谢关键酶活性的影响[J]. 中国烟草科学, 2007, 28(1): 18-20.
- [20] 李艳红, 蔺万煌, 彭克勤, 等. 水涝胁迫对烤烟化学品质的影响[J]. 中国烟草科学, 2000, 21(4): 35-37.
- [21] 官长荣, 刘东洋. 烤烟烟叶内几种酶活性变化及对化学成分的影响[J]. 中国烟草科学, 2003, 24(1): 1-2.
- [22] 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.
- [23] 孟焕文, 程智慧, 吴洋, 等. 温度胁迫对番茄转化酶表达和光合特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2006, 34(12): 41-46.
- [24] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 298-299.
- [25] 王逸群, 周发俊, 曾少娇. 淹水对烟草叶肉细胞伤害的超微结构观察[J]. 重庆科技学院学报: 自然科学版, 2008, 10(3): 41-46.