

# 烟叶成熟过程中碳氮代谢关键酶对追施氮肥的响应

刘卫群<sup>1</sup>, 陈良存<sup>1</sup>, 甄焕菊<sup>2</sup>, 石永春<sup>1</sup>

(1. 河南农业大学, 河南 郑州 450002; 2. 中国烟草总公司职业技术培训中心, 河南 郑州 450008)

**摘要:** 采用盆栽试验, 通过测定烤烟成熟过程中叶片硝酸还原酶(NR)和转化酶(Inv)活性, 研究了无机氮肥的追期和追量对烟叶成熟过程中叶片碳氮代谢强度及转化的影响, 结果显示: 在上、下部叶片成熟过程中, NR 和 Inv 活性下降; 随追氮时期推迟或追氮量增加, 下部叶 NR 和 Inv 活性提高, Inv/NR 降低, Inv/NR 曲线峰值延后; 在移栽后 30 d 内或追氮量低于总施氮量 30% 时, 随追氮时期推迟或追氮量增加, 上部叶 NR 活性、Inv 活性、Inv/NR 降低。在本试验条件下, 于移栽后 30 d 追肥, 追氮量 30%, 最有利于上、下部叶成熟过程中碳氮代谢的协调和适时转化。

**关键词:** 追肥; 烤烟; 硝酸还原酶; 转化酶

中图分类号: S572. 01 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2005)03- 0074- 05

## Effect of Nitrogen Topdressing on the Key Enzymes of Carbon and Nitrogen Metabolism During the Process of Tobacco Leaf Maturation

LIU Wei-qun<sup>1</sup>, CHEN Liang-cun<sup>1</sup>, ZHEN Huan-ju<sup>2</sup>, SHI Yong-chun<sup>1</sup>

(1. Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. China Tobacco Training Centre for Professional Technicians, Zhengzhou 450008, China)

**Abstract:** The nitrate reductase and invertase activity were detected to study the effect of dressing on the level and conversion of carbon and nitrogen metabolism during the maturation of tobacco leaves by pot test. The results indicated that during the process of upper-leaf and lower-leaf maturing, the nitrate reductase and invertase activity decreased. With the postponing of topdressing stage and increasing of topdressing amount, the nitrate reductase and invertase activity of lower-leaf raised, Inv/NR decreased, and the transferring of curve was postponed. In 30 days of transplanting or when the topdressing amount was less than 30 percent of the total N fertilizer amount, the nitrate reductase and invertase activity and Inv/NR of upper-leaf decreased with postponing dressing stage or increasing N amount. In this test, it was 30 days after transplanting or 30 percent of N topdressing amount to the total N fertilizer amount that was propitious to corresponding and transforming of carbon and nitrogen metabolism during the process of upper-leaf and lower-leaf maturing.

**Key words:** Topdressing; Flue-cured tobacco; Nitrate reductase; Invertase

烟叶品质的优劣是烟株碳水化合物与含氮化合物平衡协调程度的结果<sup>[1]</sup>, 上、下部叶处在烟株两端, 这种平衡最易受到环境和栽培条件的影响。而目前我国烤烟产销之间突出的问题就是上、下部叶质量和工业可用性差<sup>[2~4]</sup>。有关烤烟上、下部叶生长发育和产质量形成的物质代谢研究已有大量报

道<sup>[5~7]</sup>, 但有关其生长发育过程中碳氮代谢的生理变化研究较少, 为此, 就 NC89 在生长后期上、下部叶的硝酸还原酶(NR)和转化酶(Inv)对追氮时期、追氮量的响应进行了研究, 旨在找出上、下部叶成熟过程中碳氮代谢的规律, 为改善上下部叶质量和可用性提供理论依据。

收稿日期: 2004- 11- 07

基金项目: 国家烟草专卖局重点资助项目(110200001011A)

作者简介: 刘卫群(1956- ), 女, 河北临城人, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草栽培与生理生化研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料与设计

试验于 2003 年在河南农业大学科教园区进行。供试烤烟品种 NC89, 5 月 10 日移栽, 种植于内径 40 cm × 高 40 cm 的盆中, 盆装干土 20 kg。土壤为潮土, 肥力中等。土壤有机质、全氮、水解氮、速效磷、速效钾含量分别为: 9.6 g/kg, 0.8 g/kg, 66.2 mg/kg, 22.3 mg/kg, 173.6 mg/kg, pH 值为 8.10。每盆施纯氮 3 g, N: P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: K<sub>2</sub>O = 1: 1.5: 3, 追肥中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N: NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N = 1: 1。设置追氮时期和追氮量 2 个试验。追氮时期试验设移栽后 20, 30, 40 d 追施 3 个处理, 追氮量占总施氮量的 30%, 用处理 T1, T2, T3 表示; 追氮量试验设追氮量占总施氮量的 15%, 30%, 45% 3 个处理, 在移栽后 20 d 和 40 d 分 2 次追施, 每次追施一半, 用处理 T4, T5, T6 表示; 对照不追肥, 用 T0 表示。每处理 12 盆, 7 月 15 日打顶, 打掉底角叶, 单株留 20 片叶。

### 1.2 取样与测定方法

分别在移栽后 68, 71, 74, 77, 80 d 取下部叶(从顶向下第 16 片), 84, 89, 94, 99, 104 d 取上部叶(从顶向下第 3 片), 每处理 3 片, 用蒸馏水冲洗, 纱布揩干备用。NR 活性采用活体法测定<sup>[8]</sup>; Inv 活性测定: 除去叶脉, 将叶片剪碎, 准确称取 0.5 g 样品 2 份, 在研钵中加入少量蒸馏水研磨成匀浆, 然后定容到 50 mL, 摇匀, 取 10 mL 4 000 r/min 离心 15 min, 分别吸取上清液 2 mL 加入两试管中, 各加入 pH 6.0 磷酸缓冲液 5 mL 及 10% 蔗糖溶液 1 mL(其中一试管加入之前沸水浴 10 min, 钝化酶的活性, 此管作调零用), 37 °C 水浴保温 30 min, 分别从两试管中吸取 2 mL 反应液于两刻度试管中, 各加入 1.5 mL 3,5-二硝基水杨酸试剂, 沸水浴 5 min, 冷却, 定容至 20 mL, 540 nm 波长下测定 OD 值。所有结果都以鲜重计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 烟叶成熟过程中 NR 对追施无机氮肥的响应

2.1.1 下部叶成熟过程中 NR 活性对追施无机氮肥的响应 烟株移栽后 68 d, 下部叶正处于成熟期, 叶片内含氮化合物应趋于分解。从图 1, 2 可以看出, 随着下部叶的成熟, NR 活性整体呈下降趋势, 同期各追肥处理的 NR 活性均高于对照。随追肥时期的推迟, NR 活性表现为 T0 < T1 < T2 < T3 (图

1); 随追氮量的增加, NR 活性表现为 T0 < T4 < T5 < T6 (图 2)。表明随着追肥时期的推迟和追氮量的增加, 下部叶成熟过程中氮代谢强度增强, 这会推迟下部叶的成熟期, 这可能是追肥延长了土壤氮素营养的释放, 提高了下部叶内硝态氮的浓度和氮素的利用率, 氮代谢仍较活跃的缘故。

2.1.2 上部叶成熟过程中 NR 活性对追施无机氮肥的响应 追肥对上部叶成熟过程中 NR 活性影响很大, 不同追肥时期处理的 NR 活性表现为 T2 < T1 < T0 < T3 (图 3), 不同追肥量处理的 NR 活性表现为 T5 < T4 < T0 < T6 (图 4)。随着烟叶的逐步成熟, NR 活性下降。移栽后 89 d 与移栽后 84 d 相比, T1, T2, T5 NR 活性下降更快, 分别下降了 12.7%, 20.6%, 16.7%, 而对照 T0 只下降了 2%, 之后, 各处理下降速率差别逐渐减小, 但到成熟时, NR 活性仍是 T3, T6 高, T2, T5 低。这可能是由于 T2, T5 处理土壤氮素营养释放较能满足上部叶生长需求, 促进了上部叶成熟的结果, 表明追施无机氮肥的时期和追量如果适当, 能降低上部叶成熟过程中氮代谢的强度。

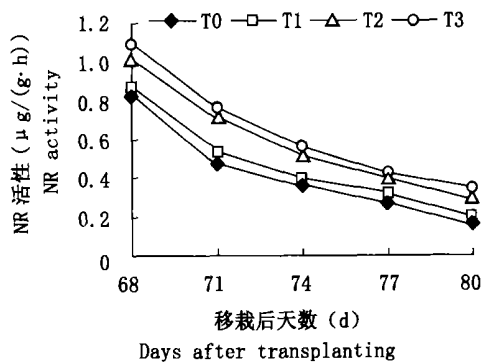


图 1 追氮时期对下部叶 NR 活性的影响

Fig. 1 The effect of N topdressing stage on NR activity of lower-leaf

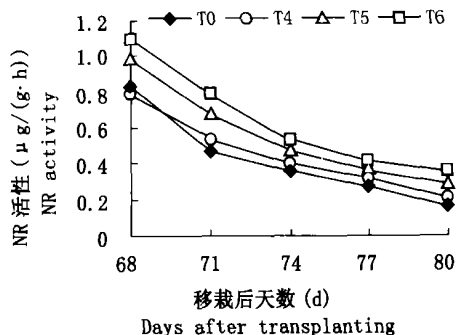


图 2 追氮量对下部叶 NR 活性的影响

Fig. 2 The effect of N topdressing amount on NR activity of lower-leaf

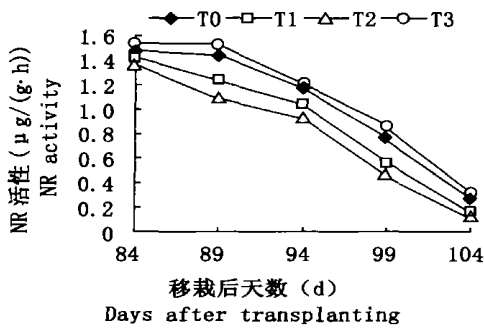


图3 追氮时期对上部叶 NR 活性的影响

Fig.3 The effect of N topdressing stage on NR activity of upper-leaf

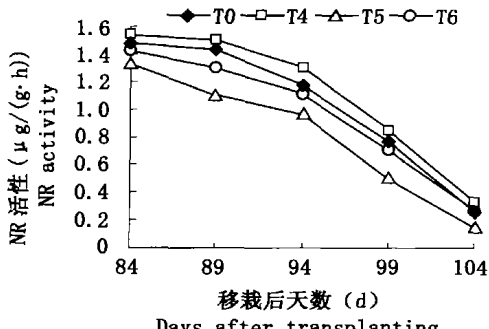


图4 追氮量对上部叶 NR 活性的影响

Fig.4 The effect of N topdressing amount on NR activity of upper-leaf

## 2.2 烟叶成熟过程中 Inv 活性对追施无机氮肥的响应

2.2.1 下部叶成熟过程中 Inv 活性对追施无机氮肥的响应 由图 5, 6 看出, 追肥能提高下部叶成熟过程中 Inv 活性, 且随追氮时期的推迟或追氮量的增加, 下部叶 Inv 活性提高, 移栽后 74 d 之前, 各处理的差别较大, 此时, T1, T2, T3, T5, T6 Inv 活性的平均值分别是对照的 1.07, 1.13, 1.26, 1.14, 1.26 倍, 但随着下部叶成熟度的提高, 处理间差异减小。这可能是追肥延长了烟株生长后期下部叶光合作用的缘故, 表明推迟追肥时期和提高追氮量能提高下部叶碳代谢强度。

2.2.2 上部叶成熟过程中 Inv 活性对追施无机氮肥的响应 不同追肥时期处理上部叶 Inv 活性表现为  $T2 < T1 < T0 < T3$  (图 7), 不同追氮量上部叶 Inv 活性表现为  $T5 < T4 < T0 < T6$  (图 8)。移栽后 94 d 之前, 各处理的差异明显, T1, T2, T3 Inv 活性的平均值分别是对照的 0.88, 0.74, 1.26 倍, T4, T5, T6 分别是对照的 0.93, 0.74, 1.18 倍, 之后, 差异减小, 但 T3, T6 仍很高, 这可能是 T1, T2, T5 处理上部叶开片接近于理想, 易于成熟, T3, T6 处理后期供氮过多, 落黄成熟减慢的结果。表明追期不宜太晚, 追

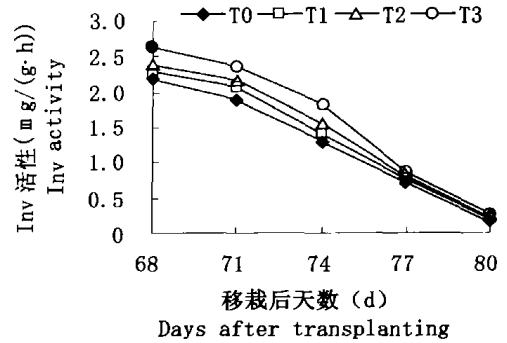


图5 追氮时期对下部叶 Inv 活性的影响

Fig.5 The effect of N topdressing stage on Inv activity of lower-leaf

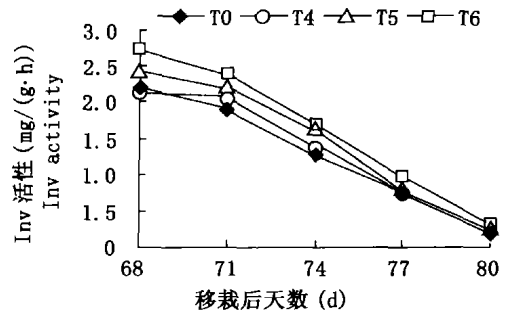


图6 追氮量对下部叶 Inv 活性的影响

Fig.6 The effect of N topdressing amount on Inv activity of lower-leaf

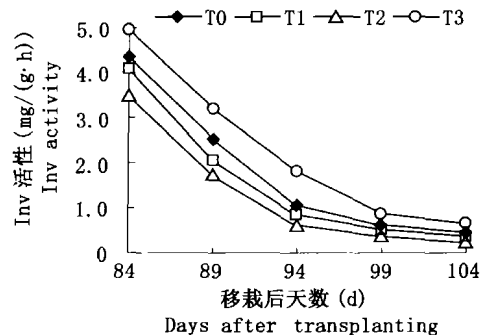


图7 追氮时期对上部叶 Inv 活性的影响

Fig.7 The effect of N topdressing stage on Inv activity of upper-leaf

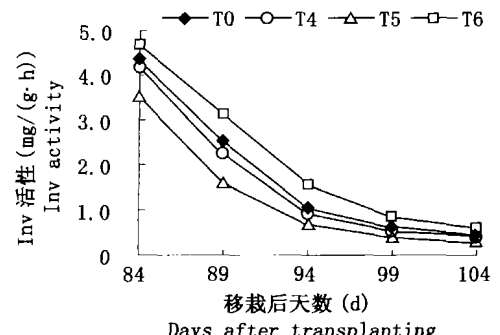


图8 追氮量对上部叶 Inv 活性的影响

Fig.8 The effect of N topdressing amount on Inv activity of upper-leaf

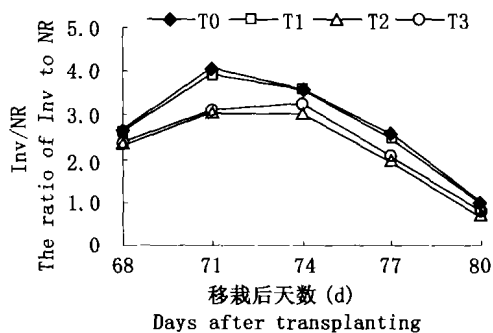


图 9 追氮时期对下部叶 Inv/NR 活性的影响

Fig. 9 The effect of N topdressing stage on Inv/NR activity of lower leaf

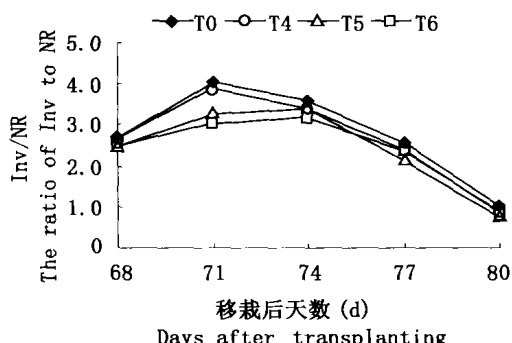


图 10 追氮量对下部叶 Inv/NR 活性的影响

Fig. 10 The effect of N topdressing amount on Inv/NR activity of lower leaf

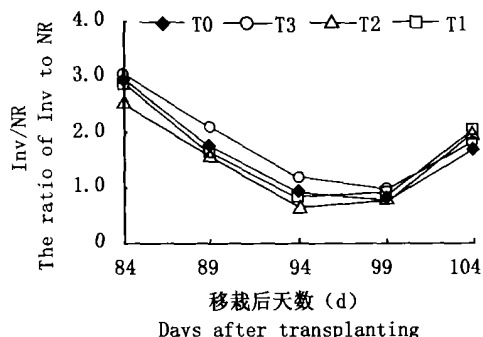


图 11 追氮时期对上部叶 Inv/NR 活性的影响

Fig. 11 The effect of N topdressing stage on Inv/NR activity of upper leaf

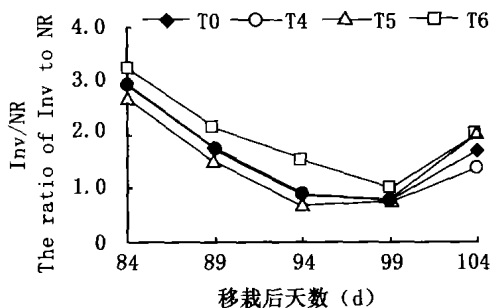


图 12 追氮量对上部叶 Inv/NR 活性的影响

Fig. 12 The effect of N topdressing amount on Inv/NR activity of upper leaf

量不可过高。

### 2.3 Inv/NR 对追施无机氮肥的响应

如图 9, 10 所示, 随着下部叶的成熟, Inv/NR 先升高后降低, 各处理间差别比较明显; 移栽后 74 d 以前, 随追肥时期的推迟和追肥量的增加, Inv/NR 降低, 74 d 以后, 规律不明显, 且 T3, T5, T6 Inv/NR 曲线最高点延后。表明下部叶成熟过程中, 前一阶段氮代谢减弱的快, 后一阶段碳代谢减弱的快, 追肥能在一定程度上提高下部叶碳氮代谢强度, 但更利于氮代谢强度提高。

上部叶 Inv/NR 曲线先降低后升高(图 11, 12), 移栽后 94 d 以前, 不同追肥时期处理上部叶 Inv/NR 表现为  $T2 < T1 < T0 < T3$ , 不同追氮量处理上部叶 Inv/NR 表现为  $T5 < T4 < T0 < T6$ , T2, T5 处理 Inv/NR 曲线的最低点提前, T3, T6 处理的 Inv/NR 一直较高。表明上部叶成熟过程中, 前一阶段碳代谢减弱的快, 后一阶段氮代谢减弱的快, T1, T2, T5 前一阶段能促进碳代谢的减弱, 后一阶段能促进氮代谢的减弱, T3 追肥时期太晚, T6 追肥量太大, 碳代谢强度一直较高, 这不利于上部叶适时成熟。

## 3 讨论

烟叶碳氮代谢是烟叶生长和产质形成过程中最基本的代谢过程, 这些过程是在酶促反应下进行的。NR 是诱导酶, 其高低反映了植株营养状况和氮代谢水平<sup>[9]</sup>, 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<sup>[10]</sup>。本研究表明, 烤烟上、下部叶成熟过程中, NR、Inv 活性降低; 随追肥时间的推迟和追氮量增加, 下部叶 NR、Inv 活性提高, Inv/NR 降低, 移栽后 68~74 d 间尤为明显, Inv/NR 曲线最高点推迟; 在移栽后 30 d 内或追氮量低于总施氮量 30% 时, 随追氮时期推迟或追氮量增加, 上部叶 NR 活性、Inv 活性、Inv/NR 降低。这可能是追氮导致后期土壤氮素含量较高<sup>[11]</sup>, 而一般植物在生育后期对氮仍有同化能力<sup>[12]</sup>的缘故。表明合理追施无机氮肥会提高成熟过程中下部叶碳氮代谢的生理机能, 推迟下部烟叶的成熟期, 同时降低上部叶碳氮代谢的生理机能, 缩短上部叶的成熟时间, 但是, 追肥时间太晚, 追量过大, 会提高后期上部叶碳氮代谢的强度, 影响上部叶碳氮代谢的适时转化, 降低上部叶质量。说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。依据植烟的实际情况,采取合理的栽培措施,能够达到同时提高上下部叶可用性的目的。

#### 参考文献:

- [1] Tso T C. Production, Physiology and Biochemistry of Tobacco Plant[M]. Beltsville, Maryland, USA: IDEALS Inc, 1990.
- [2] 纪成灿,王胜雷,许锡祥. 提高上部叶可用性和降低上部叶比例的农业措施[J]. 中国烟草科学, 2001, (4): 19- 21.
- [3] 梁 斌,蔚应俊,周应兵. 烤烟上部叶滞销的原因及农业生产对策[J]. 安徽农业科学, 2002, 30(2): 85- 226.
- [4] 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[A]. 陈江华. 中国烟叶学术论文集[C]. 北京: 科学技术文献出版社, 2004. 107- 109.
- [5] 刘卫群,郭群召,张福锁,等. 氮素在土壤中的转化及其对烤烟上部叶烟碱含量的影响[J]. 烟草科技, 2004, (5): 36- 39.
- [6] 刘齐元,何宽信,张德远. 追肥结束期对烤烟生长发育及产质量的影响[J]. Crop Research, 2003, 17(2): 88- 90.
- [7] 宫长荣,李 巍. 不同采收期对烤烟下部叶质量的影响[J]. 烟草科技, 2002, (8): 39- 40.
- [8] 陈 微. 植物组织中硝酸还原酶提取、测定和纯化[J]. 植物生理通讯, 1980, (4): 45- 49.
- [9] 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.
- [10] 史宏志,韩锦峰. 烟草碳氮代谢几个问题的探讨[J]. 烟草科技, 1998, (2): 34- 36.
- [11] Ratnavathi C V, Nageswara Rao K. Nitrate reductase of tobacco in relation to age and nitrogen fertilization [J]. Tob Res, 1992, 18(1, 2): 121- 124.
- [12] 岳寿松,于振文,余松烈. 不同生育时期施氮对冬小麦氮素分配及叶片代谢的影响[J]. 作物学报, 1998, 24(6): 811- 815.