

施氮量对皖南砂壤土烤烟碳氮代谢动态变化的影响^①

李志¹, 史宏志^{1*}, 刘国顺¹, 王道支², 祖朝龙², 杨永锋¹

(1 河南农业大学国家烟草栽培生理生化研究基地, 郑州 450002; 2 安徽皖南烟叶公司, 安徽宣城 242000)

摘要: 选取皖南典型植烟土壤, 对不同施氮(N)量烤烟生长发育过程中硝酸还原酶、转化酶活性和碳氮代谢产物含量的变化动态进行了测定分析。结果表明, 随施N量的增加, 硝酸还原酶活性提高, 活性高峰下部叶出现在移栽后40天; 中、上部叶出现在移栽后55天, 高峰值处理N8(N 8 kg/667m²) > N7(N 7 kg/667m²) > N6(N 6 kg/667m²) > N5(N 5 kg/667m²)。在烟叶生长发育过程中转化酶活性达到最大值后明显下降。烟株地上部总N累积量、烟碱含量和烟碱累积量不断增加, 施N量愈高增加幅度愈大。总糖含量随施N量的增加而减少, 上部叶总糖含量的积累水平低于中部叶和下部叶, 上部叶中N8处理总糖含量最低。

关键词: 烤烟; 砂壤土; 碳氮代谢; 施氮量

中图分类号: S572

烟叶的质量风格特色受生态因素、遗传因素和栽培因素的综合影响, 其中生态因素决定了烟叶风格特色的性质^[1-4], 栽培措施是彰显和优化烟叶质量特色的重要手段。评吸专家认为, 皖南部分烟叶不仅香气浓郁, 而且富有甜感, 与世界著名的津巴布韦烟叶具有较大的相似性^[5]。皖南砂壤土是生产焦甜香烟叶的典型土壤, 其特有的理化性状有利于烟叶前中期旺盛生长, 制造和积累充足的光合产物和香气前体物质, 同时又可保证成熟期物质及时充分降解和转化。焦甜香烟叶风格的形成与烟株体内C、N代谢的协调合理发展密不可分。烟叶C、N代谢是烤烟植株最基本的代谢过程, 而C、N代谢的强度、比例和动态变化受肥水运筹等栽培因素的强烈影响^[6]。过去有关烤烟施肥量研究多集中在传统的浓香型和清香型产区^[7-11], 且具有明显的地域特点, 最佳施肥量的确定也往往着眼于烟叶生长发育、产量、产值、外观和内在化学成分, 很少与烟叶C、N代谢及香味风格的形成相联系。有关焦甜香烟叶生产中施肥量对C、N代谢及焦甜香烟风格的影响未见报道。本研究通过在生产焦甜香的砂壤土调整施N

量, 研究了烟叶C、N代谢的变化动态及其对烟叶焦甜香烟风格的影响, 以探讨具有显著焦甜香烟叶具有的适宜的C、N代谢水平, 协调的C、N代谢比例和合理的动态变化模式, 为生产上通过科学施肥, 调节烟叶C、N代谢, 彰显焦甜香烟风格特点提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验2008年设在安徽宣城市文昌镇施平村, 属青弋江流域, 土壤类型为冲积砂壤土, 土壤肥力中等偏上, 速效K、有机质含量较高(表1)。栽培品种为云烟87, 基肥为每667m²60kg饼肥, 80kg无锡三元复合肥(N:P₂O₅:K₂O为1:1.5:3)于2月15日起垄前施入; 烟苗于3月30日移栽, 4月23日追肥。共设4个追N量处理, 分别为N5、N6、N7和N8, 每667m²纯N用量分别为5、6、7和8kg, 肥料品种为硝酸钾, 溶于水均匀穴施, 每个处理3次重复, 随机区组排列, 每个小区长10m, 2行区, 行株距为1.2m×0.5m, 每个小区种植40株烟。

表1 土壤主要基础肥力因子值

Table 1 Information of basic soil fertility of experimental field

土壤	有机质 (g/kg)	速效 N (mg/kg)	速效 P (mg/kg)	速效 K (mg/kg)	Cl ⁻ (mg/kg)	pH
冲积砂壤土	23.8	143.5	8.8	108.4	2.0	5.2

①基金项目: 国家烟草专卖局科技项目(110200601015)资助。

* 通讯作者 (shihongzhi88@163.com)

作者简介: 李志(1984—), 女, 河南西峡人, 硕士研究生, 主要从事烟草栽培生理研究。E-mail: lizhi_216@163.com

1.2 样品采集和处理

酶活性测定样品: 分别在移栽后 40、55、70、85 天取下部叶片测定硝酸还原酶 (NR) 活性、转化酶活性; 移栽后 55、70、85、100 天取中部叶和上部叶片测定硝酸还原酶活性、转化酶活性。

化学成分含量测定样品: 分别在移栽后 40、55、70、85、100、115 天分部位取叶片在 105℃ 杀青, 60℃ 烘干, 测定总 N、烟碱、总糖、淀粉和还原糖等。

1.3 测定方法

硝酸还原酶活性测定采用活体法^[12]; 转化酶的测定: 除去叶脉, 将叶片剪碎, 称取 0.5 g 样品 3 份, 在研钵中加入少量蒸馏水研磨成匀浆, 然后定容到 100 ml, 摇匀, 4000 r/min 离心 15 min, 分别吸取上清液 2 ml 加入 3 试管中, 各加入 pH 6.0 磷酸缓冲液 5 ml 及 100 g/kg 的蔗糖溶液 1 ml (其中一个试管加入之前沸水浴 10 min, 钝化酶的活性, 此管作调零用), 37℃ 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 25 ml, 540 nm 波长下测定 OD 值。所有结果都以鲜重计算。转化酶活性的计算公式为:

$$A = (N - N') \times V / (T \times W \times 1000)$$

式中, A 为转化酶的活性 (mg/(g·h)), N 为酶反应液

中还原糖的浓度 ($\mu\text{g/ml}$), N' 为钝化酶反应液中还原糖的浓度 ($\mu\text{g/ml}$), V 为酶反应液的总体积, T 为反应时间, W 为材料鲜重。

总糖含量采用蒽酮比色法测定, 淀粉含量采用蒽酮法测定, 总 N 采用过氧化氢-硫酸消化法, 烟碱含量采用气相色谱法测定。

2 结果与分析

2.1 不同追氮量烟叶发育过程中碳氮代谢酶活性的变化

2.1.1 硝酸还原酶活性的变化 硝酸还原酶是 N 代谢的关键酶和限速酶, 其活性高低是烟叶 N 代谢水平的直接反映。各部位硝酸还原酶活性均随生育期的进行而表现出下降趋势 (图 1), 且随施 N 量的增加, 硝酸还原酶活性提高。不同部位烟叶硝酸还原酶活性动态变化具有不同的特征, 下部叶硝酸还原酶的活性最大值出现在移栽后 40 天, 此时以 N8 处理活性最高; 中部叶硝酸还原酶活性在移栽 55 天后, 随着生育期的推进, 硝酸还原酶含量表现出明显的下降趋势, 后期硝酸还原酶活性为 N8>N7>N6>N5; 上部叶硝酸还原酶活性 N6 处理随生育期的推进而呈现显著的下降趋势, 而 N8 处理下降趋势明显缓于其他处理; N5 处理硝酸还原酶活性一直处于最低值, 是 N 素供应不足的表现。

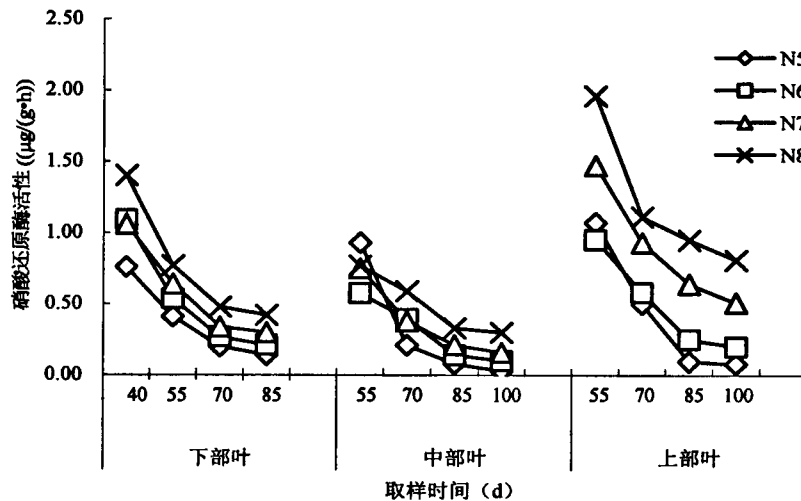


图 1 不同追 N 量对下、中、上部叶硝酸还原酶活性的影响

Fig.1 Changes of nitrate reductase activities of bottom leaves, middle leaves and top leaves under different N fertilization rates

2.1.2 转化酶活性的变化 转化酶活性反映了烟叶对光合产物的利用程度, 是 C 代谢强弱的重要标志。测定结果表明 (图 2), 在烟叶生长发育过程中转化酶

活性呈单峰曲线变化, 随着生育期的推进, 活性明显降低。下部叶转化酶在移栽后 55 天达到最大值, 各处理在移栽后 55 天均呈现明显的下降趋势, 是烟叶

开始落黄的标志,随着成熟期的临近,处理间差异减小(N5除外);这可能是追肥延长了生长后期烟株下部叶光合作用的缘故,表明提高追N量能提高下部叶C代谢强度;中部叶中N8、N7、N6处理中转化酶活性明显高于N5,且中部叶N7、N6处理在移栽后

85天呈现明显的下降趋势,表明中部叶中N处理对烟株正常的生长发育有利,有利于烟株的正常成熟落黄,为好品质的形成奠定好的物质代谢基础;上部叶N7处理在移栽后85天下降趋势明显缓于其他3个处理,是其C代谢旺盛的表现。

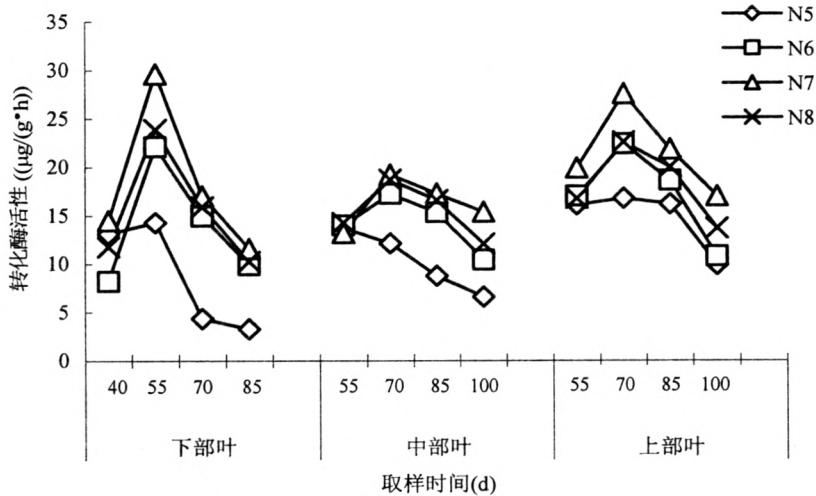


图 2 不同追 N 量对下、中、上部叶转化酶活性的影响

Fig.2 Changes of invertase activities of bottom leaves, middle leaves and top leaves under different N fertilization rates

2.2 不同追氮量烟叶发育过程中碳氮代谢产物的变化

2.2.1 总 N 含量的变化 在烟叶生长和成熟过程中,叶片总 N 含量呈逐渐下降趋势,各处理表现一致(图 3)。不同部位烟叶中,上部叶总 N 的积累始终大于下部叶和中部叶。下部叶总 N 含量在移栽后 55 天后呈现下降趋势,N5、N6、N7 处理在移栽 55 天前表现出相似的变化强度,在 55 天后,N5 处理总 N 含量显著下降,高 N 处理 N8 下部叶总 N 含量下降趋势

明显缓于其他 3 个处理;中部叶从移栽后 55 天开始取样,中部叶在打顶后下降明显,N8 处理的总 N 含量始终处于最大值,明显高于其他 3 个处理,中 N 处理 N6、N7 在 70 天后表现出相似的下陷趋势;上部叶在打顶后下降明显,低 N 处理 N5 上部叶随着生育期的推进总 N 含量下降明显,高 N 处理 N8 在 100 天后依然有较高的含量,说明高 N 处理使 N 代谢的高峰推迟,不利于烟叶 C 带代谢的协调。

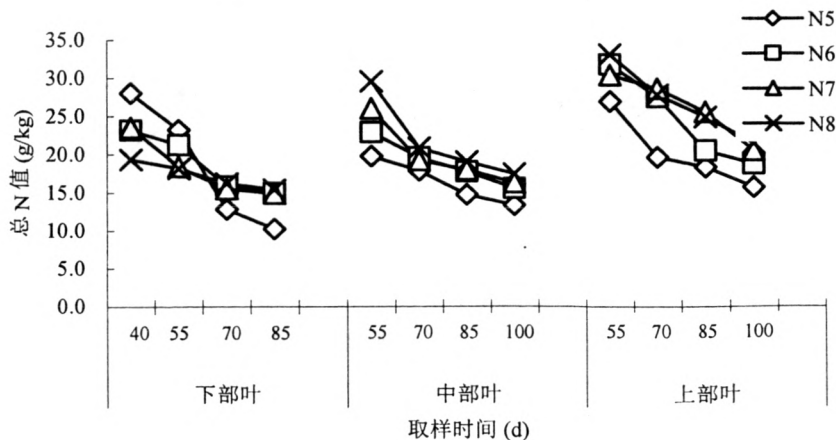


图 3 下部叶、中部叶和上部叶总 N 含量随不同追 N 量的变化

Fig. 3 Changes of total N contents of bottom leaves, middle leaves and top leaves under different N fertilization rates

2.2.2 烟碱含量的变化 烟碱是烟叶 N 代谢的产物，在根中合成，被转运到叶片中进行贮藏。在烟叶生长发育过程中不同部位叶片烟碱含量均呈现持续增加趋势，随 N 用量的增加烟碱含量明显增加，下部叶烟碱含量在 40 天到 55 天的积累速度明显缓于 55 天到 70 天，说

明烟株打顶后烟碱含量大幅提高，在移栽后 85 天下部叶烟碱含量以 N8 处理最高（表 2），中部叶和上部叶中烟碱的变化规律相似，移栽后 70 天后，烟碱含量急剧增加，在移栽后 100 天烟碱含量达到最大值，上部叶烟碱含量随施 N 量的多少变化尤为明显。

表 2 追 N 量对烟叶发育过程中烟碱含量的影响 (g/kg)

Table 2 Changes of nicotine contents in leaves during plant growth under different N fertilization rates

部位	处理	40 d	55 d	70 d	85 d	100 d
下部叶	N5	0.297	0.305	0.563	1.23	
	N6	0.19	0.338	0.516	1.35	
	N7	0.253	0.256	0.52	1.65	
	N8	0.24	0.345	0.67	1.92	
中部叶	N5		0.297	0.936	2.043	2.345
	N6		0.313	1.258	2.274	2.435
	N7		0.277	1.364	2.303	2.503
	N8		0.32	1.417	2.514	2.654
上部叶	N5		0.216	1.053	2.115	2.754
	N6		0.224	1.031	2.576	2.845
	N7		1.007	0.996	2.824	2.91
	N8		0.174	0.944	2.899	2.998

2.2.3 淀粉含量的变化 淀粉是烟叶 C 代谢的重要产物，与光合作用密切相关。在烟叶生长发育过程中，淀粉含量逐渐增加，但当烟叶达到生理成熟期后淀粉含量有所降低。前期较高的淀粉含量是烟叶光合作用旺盛，C 代谢活性较强的反映。下部叶淀粉含量以 N6 处理在移栽后 70 天时含量最高（图 4），且在

70 天后明显下降，说明烟叶分解代谢旺盛，利于烟叶的成熟，中部叶 N7、N6 处理淀粉含量在 55 天后，一直处于较高水平，N7 处理中部叶在 100 天时，依然具有较高的活性；上部叶 N6、N7、N8 处理在移栽后 85 天前淀粉含量大幅度增加，为上部叶生育后期的物质分解代谢奠定了良好的基础，但是 N8、N7 处

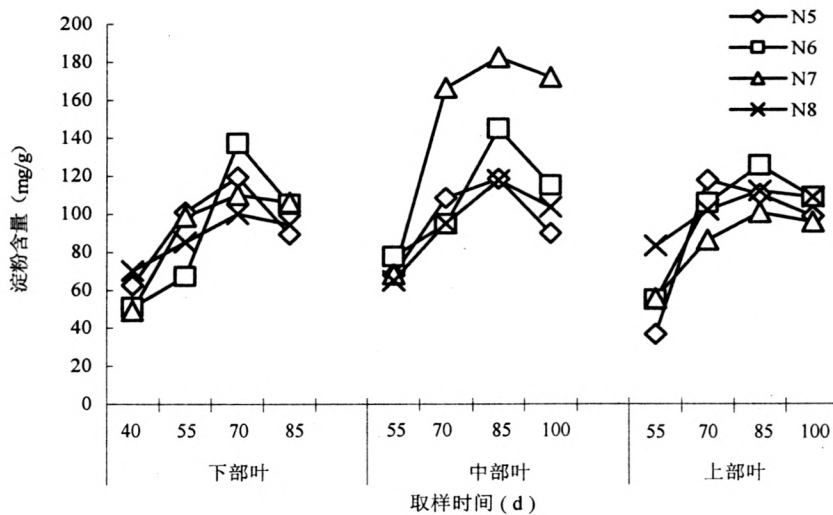


图 4 下、中、上部叶淀粉含量随不同追 N 量的变化

Fig. 4 Changes of starch contents of bottom leaves, middle leaves and top leaves under different N fertilization rates

理在 100 天时依然保持较高的活性,不利于物质的分解代谢,N5 处理淀粉含量在移栽后 70 天即进入高峰期。

2.2.4 总糖含量的变化 糖分的形成和积累与烟叶 C、N 代谢密切相关。在烟叶生长发育过程中,烟叶总糖含量一般呈持续增长趋势,总糖含量随施 N 量

的增加而减少。随着叶片的定长和进入功能盛期,总糖含量显著升高(图 5),表明 C 的积累代谢在叶片功能盛期以后逐渐增强。中部叶 N7 处理总糖含量水平较高,上部叶总糖含量的积累水平低于中部叶和下部叶,上部叶总糖含量随施 N 量的增加降低,N8 处理总糖含量明显偏低,说明高 N 抑制了总糖含量的提高。

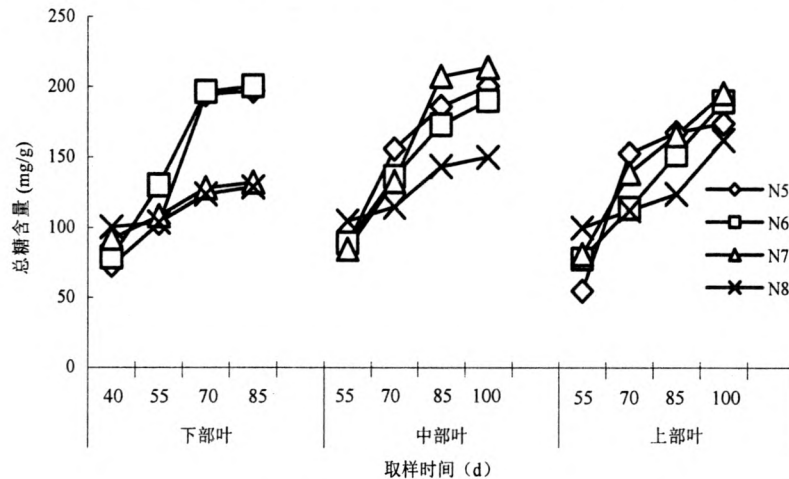


图 5 下、中、上部叶总糖含量随追 N 量的变化

Fig. 5 Changes of total sugar contents of bottom leaves, middle leaves and top leaves under different N fertilization rates

3 结语与讨论

C、N 代谢是烟草生长发育最基本的代谢过程,烟叶品质的优劣是烟株 C、N 代谢协调程度的结果^[13]。烟叶品质与成熟期的物质代谢、施肥水平密切相关,特别是 N 素营养对烟叶品质形成的影响最大,它不仅涉及 C、N 代谢的水平及其转化时间的早迟,并进而影响到糖、N、烟碱等的积累^[14]。

本研究结果表明,在叶片生长和成熟过程中,与烟叶 C 的固定和转化代谢密切相关的转化酶活性和 N 代谢的关键酶硝酸还原酶活性在叶片功能盛期以后逐渐降低,峰值分别出现在叶片功能盛期和成熟期,表明随着叶片的发育和成熟,N 代谢和 C 的固定和转化代谢逐渐减弱,C 的积累代谢逐渐增强,进入成熟期后 C 的分解代谢加强。随着施 N 水平的增大,InV、硝酸还原酶活性提高,高 N 处理下,C 代谢的高峰推迟,不利于烟株正常代谢的进行。在烟叶生长盛期,硝酸还原酶活性最高,说明此时 N 代谢强度最高。随着叶片的成熟,硝酸还原酶活性逐渐下降,即逐渐由 N 代谢转化为 C 代谢。低 N 水平时硝酸还原酶活性太低,烟叶生长前期 N 代谢强度较低,在一定程度上影响了烟叶生长。而高 N 水平时,到烟叶成熟后期,硝酸还原酶活性仍然很高,这将推

迟烟叶适时由 N 代谢转化为 C 代谢,使烟叶贪青、落黄晚,从而影响烟叶品质。烟碱含量在烟草整个生长发育过程中,一直呈现增加趋势。国内外大量的研究已经证明,作物对 N 肥的反映不仅受施 N 量的影响,还受土壤类型、肥料类型、施肥时期、基肥和追肥比例、土壤残留 N 和矿化 N 供应、气候变化、前作等的影响^[15-17]。近几十年的研究^[18]已经证明 N 肥的施用时间显著影响作物对 N 肥的利用率。通过试验确定最佳的追肥时间,更好地提高 N 肥的利用率,为更好地彰显皖南烟叶焦甜香的特色,提供最佳的施 N 量。

综上所述,低 N 处理硝酸还原酶活性提早下降,促使烟株早熟,N5 和 N6 处理硝酸还原酶活性下降明显,此时烟株叶片 N 代谢强度逐渐减弱,C 代谢逐渐加强,符合生产优质烟叶的要求,而高 N 处理后期硝酸还原酶活性偏高。

参考文献:

- [1] 左天觉,朱尊权,烟草的生产、生理和生物化学.上海:上海远东出版社,1993
- [2] 张燕,李天飞,宗会,温华东,宋玉川,杨士波,屈生彬.不同产地香料烟内在化学成份及致香物质分析.中国烟草科学,

- 2003(4): 12-16
- [3] 管天镇, 郭月清. 烟草栽培. 北京: 中重农业出版社, 1996
- [4] 杨兴有, 刘国顺. 成熟期光强对烤烟理化特性和致香成分含量的影响. 生态学报, 2007, 27(8): 3450-3456
- [5] 杨超. 皖南烤烟质量特色与土壤生态关系研究(硕士学位论文). 郑州: 河南农业大学, 2008: 1-55
- [6] 史宏志, 韩锦峰. 烤烟碳氮代谢几个问题的探讨. 烟草科技, 1998(2): 34-36
- [7] 邱玲, 王亮, 熊杰, 邱莉, 刘敬业, 冉帮定, 李天福. 不同施氮量对云南烤烟中 β -胡萝卜素的影晌. 云南民族学院学报, 1999, 8(1): 33-35
- [8] 秦燕青, 李春俭, 赵正雄, 武雪萍, 张福锁. 不同供氮方式和施氮量对烤烟生长和氮素吸收的影响. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(3): 436-442
- [9] 刘卫群, 陈良存, 甄焕菊, 石永春. 烟叶成熟过程碳氮代谢关键酶对追施氮肥的响应. 华北农学报. 2005, 20(3): 74-78
- [10] 钟晓兰, 张德远, 何宽信, 李立新, 程小强. 红壤性水稻土上钾肥运筹对烤烟产量和品质的影响. 土壤, 2006, 38(3): 315-321
- [11] 钟晓兰, 张德远, 李江涛, 袁兰, 程小强, 陈水根. 施钾对烤烟钾素吸收利用效率及其产量和品质的影响. 土壤, 2008, 40(2): 216-221
- [12] 陈微. 植物组织中硝酸还原酶提取、测定和纯化. 植物生理通讯, 1980(4): 45-49
- [13] 熊福生, 高煜珠, 詹勇昌, 李国峰. 植物叶片蔗糖、淀粉积累与其降解酶活性关系研究. 作物学报, 1994, 20(1): 52-58
- [14] 刘敬业, 冉帮定, 李天福, 杨金辉, 张燕春. 烤烟 K326 成熟期中物质代谢与品质形成关系的研究. 昆明师范高等专科学校学报(自然科学版), 1994(1): 98-106
- [15] Huggins DR, PanWL. Nitrogen efficiency component analysis: An evaluation of cropping system differences in productivity. Agron. J., 1993, 85: 898-905
- [16] Borghi B. Nitrogen as determinant of wheat growth and yield // Satorre EH, Slafer GA. Wheat Ecology and Physiology of Yield Determination. New York: Food Products Press, 2000: 67-84
- [17] Blankeanu K, Olfis HW, Kuhlmann H. Strategies to improve the use efficiency of mineral fertilizer nitrogen applied to winter wheat. Agron. J. Crop Science, 2002, 188: 146-154
- [18] 余冬立, 谢小立, 王凯荣, 陈敏. 基于稻草还田的稻田生态系统 N 素吸收特性研究. 生态与农村环境学报, 2007, 23 (1): 88-91

Changes of Carbon-Nitrogen Metabolism of Flue-Cured Tobacco with Sweet Aroma in South Anhui Under Different Fertilization Rates

LI Zhi¹, SHI Hong-zhi¹, LIU Guo-shun¹, WANG Dao-zhi², ZU Chao-long², YANG Yong-feng¹

(1 National Tobacco Cultivation and Physiology and Biochemistry Research Center, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2 South Anhui Tobacco Corporation, Xuancheng, Anhui 242000, China)

Abstract: Typical tobacco soils in South Anhui were selected to investigate the changes of the activities of some enzymes and product contents of carbon-nitrogen metabolism during the growth of flue-cured tobacco. The results showed that the nitrate reductase activity increased first with the increase of N fertilization rate, but decreased significantly after 40 d of transplant for bottom leaves and 55 d for middle leaves and top leaves. The peak value of nitrate reductase activity was N8 (N 8 kg/667m²) > N7 (N 7 kg/667m²) > N6 (N 6 kg/667m²) > N5 (N 5 kg/667m²). The invertase activity also decreased significantly after reaching the peak value. The accumulative content of total nitrogen, the content and accumulative content of nicotine in tobacco leaves increased gradually, showed positive responses to the increase of N fertilization rate. The content of total sugar decreased with the increase of N fertilization rate, the accumulation of total sugar in top leaves was lower than those in middle and bottom leaves. N8 treatment showed the lowest content of total sugar.

Key words: Flue-cured tobacco, Coarse sandy soil, Carbon-nitrogen metabolism, N fertilization rate