

## 南阳烟区不同品种烤烟打顶后酶活性及化学成分分析

张晓蕴<sup>1</sup>, 赵铭钦<sup>1\*</sup>, 卢叶<sup>1</sup>, 刘云<sup>1</sup>, 习红昂<sup>2</sup>, 王传兴<sup>2</sup>

(1.河南农业大学 烟草学院, 河南 郑州 450002; 2.河南省烟草公司 南阳分公司, 河南 南阳 473061)

**摘要:**以 NK4、S2007、豫烟 5 号、豫烟 6 号、8342、8302、NC89、红花大金元、Y041 和云烟 87 等 10 个烤烟品种为材料,研究了不同品种烤烟打顶时以及打顶后 10、20、30、40 d 硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)、转化酶(invertase, Inv)、 $\alpha$ -淀粉酶(amylase, AM)活性的变化和烤后烟叶化学成分的协调性。结果表明:1) 成熟前期豫烟 5 号和 NK4 的 NR 和 Inv 活性较高,烟株碳水化合物的积累较强,其后持续减弱;成熟后期豫烟 6 号和 NK4 的 AM 活性较高,使得碳水化合物的代谢强度减弱缓慢,有利于烟叶充分成熟;2) 豫烟 5 号和 NK4 各化学成分的含量均在最适范围内,化学成分协调,内在品质较突出。因此,豫烟 5 号和 NK4 较宜在南阳烟区种植。

**关键词:**烤烟;硝酸还原酶;转化酶; $\alpha$ -淀粉酶;化学成分;南阳

中图分类号: S572.01; Q55 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)02-0155-05

## Analysis of enzyme activity and chemical composition of different varieties of flue-cured tobacco after topping in Nanyang tobacco-growing areas

ZHANG Xiao-yun<sup>1</sup>, ZHAO Ming-qin<sup>1\*</sup>, LU Ye<sup>1</sup>, LIU Yun<sup>1</sup>, XI Hong-ang<sup>2</sup>, WANG Chuan-xing<sup>2</sup>

(1.College of Tobacco, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2.Nanyang Tobacco Company of Henan Province, Nanyang, Henan 473061, China)

**Abstract:** Using ten flue-cured tobacco cultivars, namely NK4, S2007, Yu5, Yu6, 8342, 8302, NC89, Honghuadajinyuan, Y041, Yun 87 and so on, as material, activity changes of nitrate reductase (NR), invertase (Inv),  $\alpha$ -amylase(AM) and coordination of chemical constituents in different varieties of flued-cured tobacco when topping and 10, 20, 30, 40 d after topping were studied. The results showed that: 1) Activity of NR and Inv and accumulation of carbohydrates in tobacco plants of Yu5 and NK4 was higher in early maturity stage, followed by continued decreasing. AM activity of Yu6 and NK4 in late maturity stage was higher, making a slow reduction of carbohydrate metabolism intensity, which was conducive to fully mature leaf. 2) Amount of various chemical components of Yu5 and NK4 were in optimal range, with chemical composition in coordination, internal quality prominent. So NK4 and Yu5 planted in Nanyang were more suitable to be cultivated in Nanyang tobacco-growing areas.

**Key words:** tobacco; nitrate reductase; invertase;  $\alpha$ -amylase; chemical composition; Nanyang

在烟叶生长成熟过程中,碳氮代谢平衡协调,才能生产出优质烟叶,而在烟叶碳氮代谢过程中,各种酶活性的变化起着决定性的调节作用<sup>[1-3]</sup>。生产上常采用打顶措施来打破烟株的顶端优势,协调养

分的运转方向,从而调节碳氮代谢<sup>[4]</sup>。有研究<sup>[5-6]</sup>表明,烟叶品质的好坏不仅取决于主要化学成分含量的多少,还在于各成分之间是否协调平衡。目前,对于烤烟碳氮代谢酶结合营养元素或其他方面的

收稿日期: 2009-11-29

基金项目: 国家烟草专卖局重大科技攻关项目(110200401004)

作者简介: 张晓蕴(1987-),女,重庆云阳人,硕士研究生,主要从事烟草化学研究; \*通讯作者, mqzhao999@tom.com

研究比较多<sup>[7-9]</sup>,打顶后叶片碳氮代谢酶活性的变化及化学成分的报道较少.笔者分析了南阳烟区10种不同基因型烤烟打顶后硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)、转化酶(invertase, Inv)、 $\alpha$ -淀粉酶(amylase, AM)活性变化及烤后烟叶的化学成分含量,旨在为筛选适合当地种植的烤烟品种提供参考.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试品种为NK4、S2007、豫烟5号(以下简称豫5)、豫烟6号(以下简称豫6)、8342、NC89、红花大金元(以下简称红大)、Y041、8302等9个不同基因型,云烟87作对照(CK).

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试验设计

试验于2008年在河南省方城县清河乡优质烟叶科技示范园进行.土壤质地为砂壤土,土层深厚,土壤pH为7.3,有机质含量12.8 g/kg,碱解氮、有效磷( $P_2O_5$ )、有效钾( $K_2O$ )含量分别为62.8、10.1、132.6 mg/kg.土壤肥力中等,前茬为黑麦草,地势平坦,排灌方便.每667 m<sup>2</sup>施纯氮3.5 kg, N、 $P_2O_5$ 、 $K_2O$ 的质量比为1:2:4,各品种处理施肥和田间管理同常规.所用肥料为芝麻饼肥、烟草专用肥、过磷酸钙、硝酸钾.

采用单因子完全随机区组设计,重复3次,每小区面积66.7 m<sup>2</sup>,4月中下旬开始移栽,行距120 cm,株距50 cm,覆盖地膜,移栽后40 d揭膜,单株留叶20~22片,区组设通道,四周设保护行.田间每小区定10株记载植物学性状,成熟采收时各小区单采收、单分级、单记产,采用三段式烘烤工艺进行调制,分级按GB 2635—1992进行.

#### 1.2.2 测定项目和方法

在打顶时及打顶后10、20、30、40 d对10个品种定株取样(上、中、下3个部位烟叶)5次,进行碳氮代谢酶即硝酸还原酶、转化酶、 $\alpha$ -淀粉酶活性的测定.硝酸还原酶和转化酶活性分别参照文献[10]和[11]的方法测定, $\alpha$ -淀粉酶活性参照3,5-二硝基水杨酸比色法<sup>[12-13]</sup>测定.

烟叶成熟后采用三段式烘烤,挑选CR3烟样

粉碎后过孔径为0.38 mm筛,用于化学成分的分析.采用蒽酮比色法测定总糖含量;采用过氧化氢-硫酸消化法测定总氮含量,采用活性炭脱色盐酸提取法<sup>[14]</sup>测定烟碱含量;采用火焰光度法<sup>[15]</sup>测定钾含量;采用银量法测定氯含量.各测定数据均换算成百分比.

全文数据均采用DPS统计软件进行分析.

## 2 结果与分析

### 2.1 不同基因型烤烟酶活性的变化

#### 2.1.1 NR活性

NR是NO<sub>3</sub><sup>-</sup>同化过程中的第一个关键酶,对作物的光合作用、呼吸作用及氮素代谢等有着重要影响.不同品种、不同生育期烤烟的硝酸还原酶活性显著不同<sup>[16]</sup>.由表1可知,除Y041外各品种硝酸还原酶活性均表现为打顶时最高.随着烟叶的成熟,硝酸还原酶活性逐渐降低,并降至低点.说明打顶后氮代谢急剧下降,氮素同化能力降低.烟叶各时期不同品种间酶活性差异显著,尤其是打顶时和打顶后10 d这2个时期,打顶时NK4和豫烟5号的硝酸还原酶活性远远高于其他品种,其中Y041和豫烟6号硝酸还原酶活性较低.打顶后10 d时,8302、8342和云烟87的硝酸酶活性较高,而NK4与豫烟5号却急剧下降至较低活性,Y041、8302、8342与云烟87硝酸还原酶活性下降较为缓慢.

表1 不同基因型烤烟中部叶的硝酸还原酶活性

Table 1 Comparative analysis of activeness of nitrate reductase in cutter leaves of different genotypes

品种	不同取样时期烤烟硝酸还原酶活性/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )				
	打顶时	10 d	20 d	30 d	40 d
Y041	3.94h	4.06de	4.15d	1.43de	0d
红大	8.67ef	3.99de	5.17b	1.79cd	0.98a
S2007	9.69d	3.70de	4.84c	6.09a	0.77b
豫5	13.47b	5.08d	4.15d	4.41b	0d
8302	11.15c	10.65a	6.02a	0.94e	0d
豫6	6.68g	6.47c	3.56f	2.23c	0d
NK4	14.37a	4.91d	5.81a	1.86cd	0d
8342	9.57d	9.52ab	4.18d	4.53b	0.43c
NC89	8.13f	2.95e	3.75ef	1.01e	0.77b
云烟87	9.43de	8.88b	3.87e	1.76cd	0d

### 2.1.2 $\alpha$ -淀粉酶活性

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, 进一步影响光和碳固定的强度<sup>[7]</sup>. 淀粉酶活性高, 有利于烟叶多余淀粉的水解, 利于烟叶品质形成. 由表 2 可知, 各品种烤烟的淀粉酶活性变化趋势均表现为随着烟叶的生长先逐渐升高, 后又下降的趋势. 除 8302 外, 各品种的淀粉酶活性最大值均在打顶后 20 d, 8302 的酶活性最高点在打顶后 30 d. 打顶时各品种的酶活性相差较小, 在打顶后 20 d 时, 云烟 87 活性最高, 远远高于其他品种, 而 8302 活性最低. 打顶后 30 d 时, 云烟 87 淀粉酶活性下降较快, 活性较低, 而 Y041、豫烟 6 号与 8342 下降缓慢, 其淀粉酶活性较高.

表 2 不同基因型烤烟中部叶的  $\alpha$ -淀粉酶活性

Table 2 Comparative analysis of activeness of  $\alpha$ -diastase of cutters of tobacco of different genotypes

品种	不同取样时期烤烟 $\alpha$ -淀粉酶的活性/(mg·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )				
	打顶时	10 d	20 d	30 d	40 d
Y041	1.96ab	2.68b	4.61b	3.01ab	2.66bc
红大	1.93ab	2.31c	3.84b	3.25b	2.13d
S2007	2.30a	3.46a	4.54b	3.44ab	2.24cd
豫 5	1.91ab	2.27c	3.58b	2.39b	2.71bc
8302	1.99ab	2.86b	2.45c	3.36ab	2.33cd
豫 6	1.99ab	2.41bc	4.63b	4.20a	3.61a
NK4	1.98ab	2.23c	4.50b	3.00ab	2.89b
8342	1.99ab	2.55bc	4.29b	4.24a	2.50bcd
NC89	1.78b	2.69bc	4.73b	2.23b	2.12d
云烟 87	1.93ab	2.17c	6.23a	2.65b	2.32cd

### 2.1.3 转化酶活性

在叶片生长过程中, 转化酶活性可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<sup>[17]</sup>. 由表 3 可知, 除 8342 外, 各品种的转化酶活性在打顶时最高, 随着烟叶成熟度的增加, 转化酶活性降低, 至打顶后 30 d 时活性又有所上升. 打顶时, NK4 活性最高(4.94), 与红大、S2007、豫烟 6 号无显著差异, 与其他品种差异显著, 8342 酶活性最低(2.39); 打顶后 10 d, 红大活性最高达 4.01, NC89 酶活性最低(0.94); 打顶后 20 d, 各品种酶活性均处在较低水平; 打顶后 30 d, 各品种的酶活性均有回升, S2007 和红大

变化最大, 分别达到了 3.41 和 2.91, 豫烟 5 号和 8342 在 1.0 以下, 其他品种都在 1.5 左右; 打顶后 40 d, NK4 和红大活性较高, 与其他品种差异显著, 8302 活性最低.

表 3 不同基因型烤烟中部叶的转化酶活性

Table 3 Comparative analysis of activeness of invertase of cutters of tobacco of different genotypes

品种	不同取样时期烤烟转化酶的活性/(mg·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )				
	打顶时	10 d	20 d	30 d	40 d
Y041	3.33cd	2.05bc	0.62b	1.46bc	1.14b
红大	4.60a	4.01a	0.24c	2.91a	1.87a
S2007	4.78a	2.55b	0.58b	3.41a	0.88bc
豫 5	3.93b	1.04de	0.52bc	0.70d	0.72c
8302	2.79de	1.99bc	1.26a	1.85b	0.34e
豫 6	4.68a	2.51b	0.48c	1.34bcd	0.08f
NK4	4.94a	2.23bc	0.98ab	1.71b	1.95a
8342	2.39e	3.89a	0.22c	0.84cd	1.00b
NC89	3.53bc	0.94e	0.26c	1.59b	0.62cd
云烟 87	3.13cd	1.71cd	0.42c	1.48bc	0.38de

## 2.2 不同基因型烤烟化学成分分析

烟草主要化学成分含量的高低及其协调性是评定烟叶及其制品品质的内在因素<sup>[18-19]</sup>. 有研究<sup>[20-22]</sup>认为, 水溶性总糖是决定烟气甜度与醇和度的主要因素, 而总氮和烟碱则反映了烟叶的生理强度和烟气浓度. 糖碱比、氮碱比是评价烟气酸碱平衡的重要指标, 通常作为对烟气柔和性和细腻度的评价基础, 糖碱比一般以 8~10, 氮碱比一般以 0.9~1.0 较为适宜. 测定结果表明, 不同基因型烤烟烟叶中主要化学成分如总糖、总氮、烟碱之间有所差异, 且各种化学成分比值, 如糖碱比、氮碱比的差异更为明显, 表明烟叶化学成分的协调性与基因型表现有关, 因此, 这些化学成分可作为筛选优良烤烟品种指标.

由表 4 可知, 豫 6 的总糖含量最高, 含量最低的为红大; NC89 的总碱含量最高, 含量最低的为 NK4 和 S2007; 总氮含量最高的是 Y041, 最低的是 S2007; 氮碱比介于 0.9~1 的有豫 5、豫 6、红大、云烟 87; 糖氮比在 10 以下的有红大和 Y041; 糖碱比在 10 以下的有红大和 NC89, 钾氮比均偏低.

表4 不同基因型烤烟的化学成分

Table 4 Chemical composition analysis on tobacco of different genotypes

品种	化学成分质量分数/%					总氮/ 糖/氮	糖/碱	钾/氯	烟碱
	总碱	总氮	总糖	氯	钾				
NK4	1.76	1.81	20.16	0.88	2.00	1.03	11.14	11.45	2.27
豫5	1.96	1.86	20.47	0.50	1.88	0.95	11.01	10.44	3.76
豫6	2.22	2.01	25.10	0.88	1.46	0.91	12.49	11.31	1.66
8302	1.95	2.24	24.09	0.71	1.15	1.15	10.75	12.35	1.62
8342	1.87	2.15	22.99	0.90	1.52	1.15	10.69	12.29	1.69
NC89	2.43	2.09	21.51	1.02	1.54	0.86	10.29	8.85	1.51
S2007	1.76	1.56	20.54	1.03	1.85	0.89	13.17	11.67	1.80
红大	2.18	2.05	19.88	1.07	2.57	0.94	9.70	9.12	2.40
Y041	1.91	2.57	20.01	0.70	1.40	1.35	7.79	10.48	2.00
云烟87	2.06	1.95	24.32	0.87	1.86	0.95	12.47	11.81	2.14

### 3 结论与讨论

打顶不仅有利于所留叶片的叶面积扩大和干物质积累,还会使烟叶中碳氮代谢发生较大变化,在碳代谢表现为合成旺盛的同时,氮代谢则以分解为主,同时对延缓叶片衰老也有积极作用<sup>[23]</sup>。

岳俊芹等<sup>[14]</sup>认为,优质烟形成的发育规律要求在烟株生育后期碳水化合物的代谢强度要明显大于含氮化合物的代谢强度。Inv与烟株组织的生长有密切关系,是衡量同化产物的转移和利用及植物细胞代谢生长强度的指标<sup>[23]</sup>,打顶时活性较高,有利于烟株碳水化合物的积累,提高氮代谢,使得NR活性较高。后期Inv活性急剧下降,氮代谢底物减少,NR活性随之减弱,导致氮代谢减弱,而AM活性的增强,暗示着烟株从氮代谢向碳代谢的转化<sup>[24-25]</sup>。通过分析10个不同基因型烤烟打顶后碳氮代谢酶活性的变化发现,NR活性整体呈降低趋势,代谢由以氮代谢为主逐渐转化为以碳代谢为主,含氮化合物的积累逐渐减少;除8342外,其他品种的Inv酶活性都是先降后升,而AM活性是先升后降。由此说明,叶片的碳固定和转化代谢打顶后逐渐减弱,而碳的积累代谢在打顶后逐渐增强,随着烟叶的衰老,碳的积累代谢减弱。成熟前期,豫5、NK4的NR和Inv活性较高,烟株碳水化合物的积累较强,其后持续减弱;成熟后期,豫

6和NK4的AM活性较高,使得碳水化合物的代谢强度减弱缓慢,有利于烟叶的充分成熟。综上所述,NK4、豫6和豫5表现较佳。

有资料<sup>[26]</sup>表明,烟碱含量的高低对烟叶吃味和劲头有较大影响,氮碱比的协调性与烟叶的生理强度和刺激性有密切关系。目前,中国提出的优质烟的烟碱适宜范围一般为1.5%~3.5%,最适2%左右;氮碱比 $\leq 1$ ,最适为0.8~0.9<sup>[19]</sup>。总糖和还原糖是对烟叶吸味有利的成分,目前认为优质烟叶中总糖含量为18%~22%,若糖分含量过高,则会使吸味平淡,香气不足,整体质量不协调<sup>[19]</sup>。糖碱比常被作为烟气强度和柔和性评价的基础,二者的平衡是形成均衡烟气的重要因素,比值以10左右最好<sup>[26]</sup>。钾对烟叶的燃烧力和阴燃持火力是有利的,具有助燃作用,且燃后灰分好,适宜范围在2%左右<sup>[26]</sup>;氯是阻碍烟草燃烧的不利因素之一,氯离子含量过高,烤后叶片吸潮能力增加,吸湿性强,色泽不佳<sup>[26]</sup>,优质烟叶中的氯含量一般为0.4%~0.8%<sup>[27]</sup>。钾氯比是衡量烟叶燃烧性强弱的指标,钾氯比大于1,燃烧性好,以4~10为宜<sup>[28]</sup>。本研究结果表明,就中部叶而言,总糖含量在19.88%~26.14%,烟碱含量在1.76%~2.43%,钾含量在1.15%~2.00%,氯含量在0.50%~1.03%,NK4、豫烟5号、NC89、S2007、红花大金元、Y041等烤烟烟叶的总糖含量均在适宜范围;钾、氯含量和钾/氯3个指标,豫5、CF205、NK4、云烟87等品种表现较佳,内在品质较好。综上所述,豫5、NK4的化学成分协调,内在品质较突出,较适合在南阳烟区种植。但还有一些因素如生态条件、烟叶成熟度、其他化学成分和抗病性未加分析,这不可避免地影响了对品种综合评估的准确性。同时,对一个烤烟品种的综合评估应有多次重复试验才能证明是否适宜该烟区种植,因此,对南阳烟区烤烟品种的筛选工作还需进一步完善。

### 参考文献:

- [1] 杨铁钊.烟草育种学[M].北京:中国农业出版社,2003:2-6.
- [2] 刘国顺.烟草栽培学[M].北京:中国农业出版社,2003:11-12.

- [3] 刘卫群, 张新要, 李天福, 等. 饼肥用量对烤烟叶片蔗糖代谢相关酶和碳水化合物代谢的影响[J]. 烟草科技, 2003(11): 37-40.
- [4] 元建. 烤烟打顶技术[J]. 烟草科技, 1999(5): 42-43.
- [5] 张建国, 聂俊华, 杜振宇. 施用复合生物有机肥对烤烟产量和品质的效应[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2004, 30(2): 115-119.
- [6] 韩富根, 沈铮, 李元实, 等. 施氮量对烤烟物理性状和香气质量的影响[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2009, 35(1): 53-57.
- [7] 史宏志, 韩锦峰, 赵鹏, 等. 不同氮素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.
- [8] 杨焕文, 李佛琳, 耿宗泽, 等. 烤烟大田生长期淀粉酶变化及淀粉的积累[J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2003, 25(4): 321-323.
- [9] 韩锦峰, 朱大恒, 杨素勤, 等. 不同陈化时期烤烟几种酶活性及相关化学成分的分析[J]. 中国烟草科学, 1999(1): 1-2.
- [10] 陈微. 植物组织中硝酸还原酶提取、测定和纯化[J]. 植物生理学通讯, 1980(4): 45-49.
- [11] 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: 60-65.
- [12] 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: 73-75.
- [13] 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.
- [14] 岳俊芹, 刘健康, 刘卫群. 不同氮素形态对烤烟叶片碳氮代谢关键酶活性及化学成分的影响[J]. 河南农业大学学报, 2004, 38(2): 155-158.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 108-110.
- [16] 李广才, 胡建军. 烤烟成长过程中主要化学成分的变化[J]. 黑龙江烟草, 1999(8): 10-13.
- [17] 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, 1999, 28(4): 46-53.
- [18] 程昌新, 王金平, 卢秀萍, 等. 云南省不同地区烤烟化学成分的多变量分析[J]. 郑州轻工业学院学报: 自然科学版, 2007, 22(1): 31.
- [19] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 170-174.
- [20] 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: 450-451.
- [21] 金闻博, 戴亚. 烟草化学[M]. 北京: 清华大学出版社, 1994: 53-64.
- [22] 林彩丽, 杨铁钊, 杨述元, 等. 不同基因型烟草生长过程中主要化学成分的变化[J]. 烟草科技, 2003(1): 30-34.
- [23] 刘卫群, 韩锦峰, 史宏志, 等. 数种烤烟品种中碳氮代谢与酶活性的研究[J]. 中国农业大学学报, 1998, 3(1): 22-26.
- [24] 邓云龙, 孔光辉, 武锦坤. 氮素营养对烤烟叶片淀粉积累及 SPS、淀粉酶活性的影响[J]. 烟草科技, 2001(11): 34-37.
- [25] 张金霖, 陈建军, 吕永华. 驳枝对早花烟草成熟期间叶中叶绿素含量、硝酸还原酶和淀粉酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(6): 1045-1049.
- [26] 宫长荣, 于建军, 赵铭钦, 等. 烟草原料初加工[M]. 北京: 轻工业出版社, 1993: 21-25.
- [27] 邹凯, 张光利, 阳向魁. 氮素对烤烟品质的影响及其生理机制研究进展[J]. 现代农业科技, 2009(2): 134-135.
- [28] 闫克玉, 赵献章. 烟叶分级[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 24.

责任编辑: 娄敏

英文编辑: 罗文翠