植物营养与肥料学报 2006,12(5):701 - 705
Plant Nutrition and Fertilizer Science

打顶后烤烟叶片酶活性、钾及烟碱含量的调控技术研究

许自成[1], 张 婷[1], 马 聪[2], 马京民[2], 程昌新[1], 黄平俊[1]
(1 河南农业大学烟草系,河南郑州 450002; 2 信阳市烟草公司,河南信阳 464000)

摘要: 研究了不打顶(T1)、打顶(T2)、打顶 + 追施 K_2SO_4(T3)、打顶 + 涂抹生长素 1 次(T4)、打顶 + 追施 K_2SO_4 + 涂抹生长素 1 次(T5)、打顶 + 追施 K_2SO_4 + 涂抹生长素 2 次(T6)6 种调控措施对烤烟叶片硝酸还原酶(NR)活性、过氧化物酶(POD)活性、钾含量及烟碱含量的影响。结果表明,T6 在成熟期的 NR 与 POD 活性最强,T1 最弱。在打顶后随生育时期的延长,各处理烟叶中钾含量逐渐下降,以 T1 和 T6 下降幅度最小,T2 下降幅度最大,而 T3,T4 和 T5 下降幅度居中,成熟期钾含量(%)依次为: T1(3.59) > T6(2.77) > T5(2.47) > T3(2.11) > T4(2.10) > T2(1.88)。与此相反,各处理烟叶在打顶后烟碱含量逐渐上升,成熟期烟碱含量(%)依次为: T2 (3.48) > T3(3.03) > T4(2.92) > T5(2.70) > T6(2.45) > T1(1.14)。大田期叶片钾含量与烟碱含量呈极显著的负相关关系(-0.938**),与 NR 及 POD 活性均呈极显著的正相关关系,相关系数分别为 0.838** 和 0.859**。烤后烟叶以 T6 的化学成分最为协调,其烟碱含量适中,淀粉含量较低,钾和总糖含量较高。打顶后在茎断面涂抹生长素(IAA),同时根部追施 K_2SO_4,具有较好的"提钾控碱"的效果。

关键词: 烤烟; 打顶; 酶活性; 钾含量; 烟碱含量; 调控技术
中图分类号: S572.05　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1008-505X(2006)05-0701-05

Agronomic regulation on NR and POD activities, K and nicotine contents after topping in flue-cured tobacco leaf

XU Zi-cheng[1], ZHANG Ting[1], MA Cong[2], MA Jing-min[2], CHENG Chang-xin[1], HUANG Ping-jun[1]
(*1 Tobacco Dept., Henan Agri. Univ, Zhengzhou 450002, China; 2 Tobacco Company of Xinyang City, Xinyang 464000, China*)

Abstract: The effect of different agronomic measures namely No topping(T1), Topping(T2), Topping + K_2SO_4(T3), Topping + applying IAA 1 time(T4), Topping + K_2SO_4 + applying IAA 1 time(T5), and Topping + K_2SO_4 + applying IAA 2 times(T6) on NR and POD activities, potassium and nicotine content in flue-cured tobacco leaf was studied in this paper. The results showed that T6 had the highest NR and POD activities, and T1 had the lowest NR and POD activities in mature leaf. With the time after topping, K content for different treatments decreased stepwise with lowest magnitude for TI and T6 and highest magnitude for T2. The order of potassium content (%) at mature leaf for different treatments was T1(3.59) > T6(2.77) > T5(2.47) > T3(2.11) > T4(2.10) > T2(1.88). On the contrary, content of nicotine for different treatments increased stepwise with time after topping, and the order of nicotine content (%) at mature period was T2 (3.53) > T3(3.03) > T4(2.92) > T5(2.70) > T6(2.45) > T1(1.18). At field period, potassium content had highly significant negative correlation with nicotine content ($r = -0.938$, $P < 0.01$), and highly significant positive correlation NR and POD activity with correlation coefficients of 0.838and 0.859 respectively ($P < 0.01$). After flue-curing, the chemical components of cured leaf for T6 were well coordinated with a suitable content of nicotine, lower content of starch, and highest content of potassium and total sugar. Applying both IAA and K_2SO_4 in the topping day

收稿日期: 2005-08-04　　**修改稿收到日期**: 2005-10-24
基金项目: 河南省杰出人才创新基金项目(0421001900); 河南省杰出青年科学基金项目(0112000900); 河南省烟草专卖局科技攻关项目(HYKJ200202)资助。
作者简介: 许自成(1964—),男,河南汝南人,博士,教授,从事统计遗传、烟草品质生态、烟草营养与烟叶质量评价研究。

could increase potassium and decrease nicotine in flue-cured tobacco leaf.

Key words: flue-cured tobacco; topping; enzyme activity; content of potassium; content of nicotine; agronomic regulation

烤烟打顶是去除包括部分上部叶片在内的茎顶端分生组织和花序。打顶的主要作用是消除顶端优势,平衡养分分配[1],刺激根系生长和养分吸收,增加烟叶中与香味有关的挥发性物质的含量[2];同时也使烟叶增大变厚,钾含量下降[3],烟碱含量升高[4]。主要原因是顶端优势被消除,烟株生长和物质代谢中心发生变化[5]。烤烟钾吸收速率在移栽后50d达到吸收高峰[6],所以烟草的生长后期可能会出现钾亏缺现象。已有的研究主要集中在打顶后施用生长素对烤烟钾素积累与分配的影响[3,7],较少与烟碱含量的变化相结合。因此,本试验在打顶后于烟株的茎断面涂抹生长素,使烟株继续保持虚拟的顶端优势,同时于根部追施硫酸钾肥以补充钾素亏缺。在分析烟碱和钾含量的同时,还辅助测定了大田不同生育时期2种主要酶活性及烤后烟叶的部分化学成分,为研究烤烟"提钾控碱"生产技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于2003年在河南罗山烟草试验站进行,土壤为黄砂壤土,pH值6.45,有机质含量13.10 g/kg,速效N含量84.79 mg/kg,速效P含量21.02 mg/kg,速效K含量159.33 mg/kg。供试烤烟品种为云烟87。

试验设6个处理,即:T1,不打顶;T2,打顶;T3,打顶+追施K_2SO_4;T4,打顶+涂抹生长素1次;T5,打顶+追施K_2SO_4+涂抹生长素(IAA)1次;T6,打顶+追施K_2SO_4+涂抹IAA 2次。随机区组设计,3次重复,小区面积66.70 m^2。试验所用的生长素浓度为20 mg/kg,打顶当天沿茎断面涂抹(使用浸蘸IAA溶液的脱脂棉,以延长供给时间),T6在1周后涂抹第2次。追施K_2SO_4的处理,于打顶当天根部灌施K_2SO_4(75 kg/hm^2)。各处理施氮肥均为N 75kg/hm^2,N:P_2O_5:K_2O为1:1.5:3。5月1号移栽,行株距1.10m×0.50 m,移栽后30 d揭膜,初花期打顶,留叶数18~22片。除设计要求外,其它大田管理措施按优质烟叶生产技术要求进行。

1.2 样品采集和测定

打顶当天开始取样,以后每10 d取样一次,从每处理选定的5棵烟株自下而上第10叶位进行取样,共取5片叶代表中部叶,把每片叶的中间部位去除主侧脉,混合后供酶活性测定。测定后所剩烟样杀青烘干,粉碎后过0.25mm筛,用来测定烟碱和钾含量。大田成熟叶片采用三段式烘烤工艺进行烘烤,取C3F(中桔三)等级的烟样测定烟碱、钾、淀粉和总糖含量。

硝酸还原酶(NR)采用活体法[8];过氧化物酶(POD)采用愈创木酚氧化法[9];烟碱含量采用0.5 mol/L盐酸萃取法,钾含量采用火焰光度计比色法,淀粉和总糖含量采用酸解法[10]。

2 结果与分析

2.1 不同调控措施对烤烟叶片酶活性的影响

硝酸还原酶(NR)是植物体内硝酸盐同化的一种关键酶,其活性高低直接影响烟株的氮代谢过程。随生育时期延长,6个处理的NR活性均表现为逐渐下降趋势(表1)。打顶当天各处理NR活性差异水平不显著。以后同一时期的不同处理相比较,均以T1的NR活性最低,T6的NR活性最高,且T1、T6两个处理与其余各处理的差异均达显著水平。表明打顶后涂抹生长素2次,同时配合追施K_2SO_4,可提高烟株叶片的氮代谢,保持顶端优势。

POD能清除植物体内产生的活性氧。表1还看出,6个处理的POD活性在打顶后随生育进程延长而逐渐降低,其中T1的POD活性在不同时期均显著低于其余打顶的各处理。在打顶当天各处理POD活性差异不显著。在打顶后10、20、30d的3个时期中,各处理的POD活性间差异均达显著水平,其高低顺序依次为T6 > T5 > T4 > T3 > T2 > T1。表明T6处理延缓衰老和抗逆的能力高于其它处理。

2.2 不同调控措施对烤烟叶片大田期钾和烟碱含量的影响

2.2.1 钾含量 表2看出,大田鲜烟叶钾含量总体上呈现出逐渐降低的趋势。打顶后10d,除T2与T3,T1与T6间钾含量差异不显著外,其余处理两两间差异均达显著水平,打顶当天至打顶后10d,T1和T6的钾含量下降幅度较小,分别下降16.96%和19.94%,其余4个处理烟叶钾含量下降幅度较大,降幅在30.03%~56.34%之间,之后下降趋于平稳。

表 1　不同调控措施对烤烟叶片 NR 及 POD 活性的影响

Table 1　Effect of different agronomic measures on the NR and POD activity in flue-cured tobacco leaf

项目 Items	处理 Treatments	打顶当天 Topping day	打顶后 10d 10 DAT	打顶后 20d 20 DAT	打顶后 30d 30 DAT
NR	T1	70.89 a	49.93 e	7.91 e	5.02 e
[NO_3^- mg /(g·h),FW]	T2	71.21 a	59.31 cd	10.25 d	8.77 d
	T3	70.87 a	58.55 d	11.51 cd	9.75 c
	T4	71.03 a	60.31 bc	12.15 c	10.01 c
	T5	71.26 a	60.73 b	14.02 b	11.99 b
	T6	71.21 a	65.55 a	20.74 a	15.00 a
POD	T1	1125.97 a	227.59 f	87.68 f	7.99 f
[U/(g·min),FW]	T2	1126.36 a	362.84 e	175.19 e	11.97 e
	T3	1126.32 a	552.24 d	279.27 d	31.99 d
	T4	1125.92 a	703.44 c	346.68 c	43.91 c
	T5	1126.02 a	710.58 b	386.15 b	47.95 b
	T6	1126.09 a	989.43 a	422.23 a	79.79 a

注(Note): DAT—Days after topping; 不同字母表示处理间差异达到 5% 显著水平 Different letters indicate significantly at 5% level between treatments; 下同 Same as follows.

表 2　不同调控措施对烤烟大田期钾和烟碱含量的影响

Table 2　Effect of different agronomic measures on the content of potassium and nicotine in flue-cured tobacco leaf

项目 Items	处理 Treatments	打顶当天 Topping day	打顶后 10d 10 DAT	打顶后 20d 20 DAT	打顶后 30d 30 DAT
钾含量	T1	5.96 a	4.94 a	4.21 a	3.59 a
Potassium	T2	5.95 a	2.60 d	2.09 f	1.88 e
(%)	T3	5.95 a	2.79 d	2.43 e	2.10 d
	T4	5.95 a	3.95 c	2.70 d	2.11 d
	T5	5.95 a	4.16 b	3.34 c	2.47 c
	T6	5.94 a	4.76 a	3.65 b	2.77 b
烟碱含量	T1	1.01 a	1.10 f	1.15 f	1.18 f
Nicotine	T2	0.99 a	2.88 a	3.34 a	3.48 a
(%)	T3	1.00 a	2.51 b	2.81 b	3.03 b
	T4	0.99 a	2.31 c	2.60 c	2.91 c
	T5	1.01 a	1.72 d	2.17 d	2.70 d
	T6	1.00 a	1.40 e	1.18 e	2.45 e

打顶后 20d,6 个处理间的钾含量差异均显著;打顶后 30d,除 T3,T4 间钾含量差异不显著外,其余处理间差异均达显著水平。6 个处理相对于打顶时钾素含量的降幅(%)依次为 T2(68.40) > T4(64.73) > T3(64.53) > T5(58.49) > T6(53.45) > T1(39.62),此期钾素含量(%)的高低顺序依次为 T1(3.59) > T6(2.77) > T5(2.47) > T3(2.11) > T4(2.10) > T2(1.88)。表明 T6 处理能够有效减少打顶后钾含量的降幅,保持较好的顶端优势效果。

2.2.2　烟碱含量　大田期烟碱含量随生育时期的延长逐渐升高。打顶后 10～30d,各处理间烟碱含量差异显著。从打顶当天到打顶后 10d(除 T1 外),各处理烟碱含量急剧上升,表现最明显的是 T2,上升幅度为 190.03%;其次是 T3,上幅为 151.41%。与 T2 相比,T4、T5 及 T6 处理烟碱含量的升幅得到一定程度的抑制,上升幅度在 39.37%～133.03% 之间。打顶后 30d,6 个处理较打顶时烟碱含量上升幅度(%)为 T2(249.92) > T4(203.27) > T3(193.62) > T5(168.71) > T6(144.33) > T1(17.07),此期烟碱含量(%)的高低顺序为 T2 (3.48) > T3(3.03) > T4(2.92) > T5(2.70) > T6(2.45) > T1(1.18)(表 2)。可见,打顶后追施 K_2SO_4 和(或)在茎断面涂抹

IAA 能有效地控制中部叶烟碱含量的大量积累。

相关性分析表明，打顶后，烟株体内生理生化代谢发生变化，烟叶烟碱含量提高，钾含量降低。叶片钾含量与烟碱含量的相关系数为 -0.938**，为极显著的负相关；钾含量与硝酸还原酶和过氧化物酶活性之间均为极显著的正相关，相关系数依次为 0.838** 和 0.859**。

2.3 打顶后不同调控措施对烤后烟叶主要化学成分的影响

表3可见，烟碱含量除 T3 和 T4 之间差异不显著外，二者与另4个处理间烟碱含量的差异达显著水平，6个处理烟碱含量的高低顺序依次为：T2 > T3 > T4 > T5 > T6 > T1。钾素含量最高的是 T1，其次是 T6，并与其他处理间差异显著，T3 和 T4 之间的差异则未达显著水平；钾素含量最低的是 T2，与另外5个处理之间的差异也达显著水平。表3还看出，T6 处理具有较低的淀粉含量和较高的总糖含量。

表3 不同调控措施对烤后烟叶几种化学成分影响

Table 3 Effect of different agronomic measures on the content of some chemical components in flue-cured tobacco leaf

处理 Treatments	烟碱 Nicotine (%)	钾含量 Potassium (%)	淀粉 Starch (%)	总糖 Tot. sugar (%)
T1	1.75 e	2.77 a	5.00 e	21.82 d
T2	3.21 a	1.86 e	8.24 a	23.70 c
T3	2.74 b	2.23 d	7.11 b	24.17 bc
T4	2.74 b	2.22 d	7.13 b	23.71 c
T5	2.60 c	2.36 c	6.62 c	24.56 b
T6	2.35 d	2.50 b	5.98 d	25.41 a

3 讨论

钾是生物体内很多酶的激活剂，通过一定的措施改善烟株的钾素营养能提高其抗逆性。NR 是一种光诱导酶，其活性的高低关系到烟株对氮肥和光合产物的转化与利用合成[11]。尽管 NR 受施氮量、光照、降水等多方面因素的影响，但 NR 活性高有利于烟叶成熟、产量和品质的形成[12]。本试验表明，在 NR 活性方面，T6 表现优于其它处理。合理的钾素营养能增强烟株对病虫、衰老等逆境抗性的能力，POD 能清除活性氧，是评价植物抗逆性的指标。T6 处理的 POD 活性最高，其降低程度低于其它处理；说明 T6 处理的酶促防御系统能有效提高烟株的抗逆性和抗衰老能力。

优质烟叶一般要求钾含量应达 2.0% 以上，中部叶烟碱含量在 2.5% 左右。烟叶钾含量偏低、烟碱含量偏高一直是目前烟叶品质存在的突出问题。本试验看出，打顶当天在茎断面涂抹生长素，根部追施钾肥能够提高烟叶钾含量，且涂抹2次的效果好于1次，这与洪丽芳等[13-14]研究结果相似。说明外源生长素能有效抑制烟株地上部的钾向根部的回流；同时还能抑制烟碱含量升高，这从一个侧面证明 IAA 可能是控制烟碱合成的信号传递者。韩锦峰等[15]认为，打顶后 IAA（第一信号）迅速降低，沿木质部向根传递，引起根部的 ABA、ZR（第二信号）含量增加及 GA_3 含量减少；激活烟碱合成的酶，使总氮中合成蛋白质的氮减少，自由氨基酸增加，促进了烟碱的合成，使打顶后烟碱含量急剧升高；而不打顶烟株其顶端合成的 IAA 抑制烟碱向上运输，使烟叶烟碱含量在整个生育期都能维持在一定的水平。大田期叶片钾含量与烟碱含量呈极显著负相关，说明提高钾含量的农艺措施可能会有效地控制烟碱含量。钾含量与 NR，POD 活性的相关性极显著，因此，改善烟株的钾素营养，能提高其代谢能力和抗逆境能力，最终有助于优质烟叶的质量形成。

打顶后涂抹生长素能使烟株继续保持顶端优势，避免了打顶对钾素吸收的抑制作用和烟碱合成的刺激作用；同时对烟株根系适当供钾以防止后期钾亏缺现象发生，能使钾含量提高和烟碱含量降低。本试验条件下，T6 处理达到了“提钾控碱”的理想效果，且总糖与淀粉含量均在适宜的范围之内。

参考文献：

[1] 李春俭. 植物激素在顶端优势中的作用[J]. 植物生理学通讯，1995，31：401-406.
Li C J. The role of plant hormone in apical dominance[J]. Plant Physiology Commun., 1995, 31(6): 401-406.

[2] Liu C M. Auxin polar transport is essential for the establishment of bilateral symmetry during early plant embryogenensis[J]. Plant Cell, 1993, 5: 621-630.

[3] 郭丽琢，张福锁，李春俭. 打顶对烟草生长、钾素吸收及其分配的影响[J]. 应用生态学报，2002，13(7)：819-822.
Guo L Z, Zhang F S, Li C J. Effects of decapitation on growth, uptake and distribution of potassium in tobacco[J]. Chinese J. of Applied Ecology, 2002, 13(7): 819-822.

[4] Papenfus H D. 运用打顶和控制腋芽技术调节烟叶的可用性[J]. 烟草科技，1997(1)：39-41.
Papenfus H D. Applying the technique of topping and controlling bud

to adjust applicability of tobacco leaf[J]. Tobacco Sci. and Tech., 1997 (1): 39-41.

[5] Patrick J W, Steains K H. Auxin promoted transport of metabolites in stem of *Phaseolus vulgaris* L.: Auxin does response curves and effects of in hibitors of polar auxin transport[J]. J. Exp. Bot., 1987, 38: 203-210.

[6] 胡国松，郑伟，王震东，等. 烤烟营养原理[M]. 北京：科学出版社，2000. 119-145.
Hu G S, Zheng W, Wang Z D *et al*. Principles of flue-cured tobacco nutrition[M]. Beijing: Science Press, 2000, 119-145.

[7] 赵正雄，杨宇宏，张福锁，等. 不同顶端调控措施对烟株内钾素积累和分配规律的影响[J]. 烟草科技，2002 (6): 37-39.
Zhao Z X, Yang H Y, Zhang F S *et al*. Effect of top regulation on the accumulation and distribution of potassium in tobacco plants[J]. Tobacco Sci. and Tech., 2002 (6): 37-39.

[8] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京：高等教育出版社. 2003，134-137.
Li H S. Principles and techniques of plant physiological and biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2003. 134-137.

[9] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京：高等教育出版社，2003. 224-225.
Zhang Z L. Experimental guide for plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2003. 224-225.

[10] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京：农业出版社，2003. 250-275.
Wang R X. Tobacco chemistry[M]. Beijing: Agricultural Press, 2003. 250-275.

[11] 李建伟，郑少清，石俊雄，等. 不同氮素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): 51-52.
Li J W, Zheng S Q, Shi J X *et al*. Effect of different nitrogen combination on NR and acid invertase[J]. Farming and Cultivation, 2003 (2): 51-52.

[12] 屈生彬，杨世波，李光西. 密度与施肥对香料烟成熟烟叶中几种酶活性及脯氨酸、丙二醛的影响初探[J]. 中国烟草科学，2003(1): 18-22.
Qu S B, Yang S B, Li G X. Effect of density and fertilization on kinds of enzyme activity, proline and MDA[J]. China Tobacco Sci., 2003(1): 18-22.

[13] 洪丽芳，付丽波，赵宗胜，等. 烤烟钾素库源关系生理调控措施研究[J]. 植物营养与肥料学报，2001, 7(4): 404-409.
Hong L F, Fu L B, Zhao Z S *et al*. Physiological regulation of potassium in sink source distribution of tobacco[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2001, 7(4): 404-409.

[14] Fan J, Li C J, Jeschke W D, Zhang F S. Effect of top excision and replacement by 1-naphthylacetic acid on partition and flow of potassium in tobacco plants[J]. J. Exp. Bot., 2001, 52: 2143-2150.

[15] 韩锦峰，郝冬梅，刘华山，等. 不同植物激素处理方法对烤烟内烟碱含量的影响[J]. 中国烟草学报，2001, 7(2): 22-25.
Han J F, Hao D M, Liu H S *et al*. Effect of measures treated by different plant hormone on the content of nicotine in flue-cured tobacco [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2001, 7(2): 22-25.