

氮素用量对烤烟上部叶片多酚类物质动态的影响*

王爱华, 王松峰, 宫长荣

(河南农业大学农学院, 河南 郑州 450002)

[摘要] 研究了氮素用量对烤烟上部叶片主要多酚类物质含量和相关酶活性变化的影响。结果表明, 多酚氧化酶(PPO)的活性随氮素用量增加而升高, 且各个处理多酚氧化酶的活性变化均呈先升后降的趋势, 峰值出现在打顶后 20 d; 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性也随施氮量的增加而增强, 各处理 PAL 活性均从打顶开始逐渐升高, 并在打顶后 30 d 达到高峰, 随后迅速降低; 氮用量对总酚、绿原酸、类黄酮的含量也有一定影响, 氮用量高的处理多酚类物质含量较高, 烤后烟叶多酚类物质含量随施氮量的增加而增加, 但芳香值以施氮量 45.0 kg/hm² 时最高。

[关键词] 烤烟; 氮素用量; 上部叶; 多酚; 苯丙氨酸解氨酶; 多酚氧化酶

[中图分类号] S572.062

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)03-0057-04

多酚是植物次生代谢的产物, 烟草植株中多酚含量较高(约为干烟叶重量的 0.52%~6.4%), 其对烟草的生长及烟草制品的品质具有重要影响^[1]。烟草中的主要多酚类物质为绿原酸、类黄酮和少量的茛菪亭。苯丙氨酸解氨酶、多酚氧化酶是研究较多的与多酚类物质代谢有关的酶。氮素营养可调控烟草植株的代谢, 因而施氮量影响多酚类化合物在烟草植株中的积累及代谢, 但关于不同施氮量对烤烟多酚类物质代谢动态的系统研究甚少^[2-5]。为此, 本研究主要探讨了氮素用量对烤烟上部叶片主要多酚类物质含量和相关酶活性变化的影响, 以期对烤烟的施肥管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验于 2002~2003 年在河南省襄城县王洛乡仲王村进行, 供试品种为 NC89, 试验田为潮土两合土, 土壤肥力中等。试验设 3 个氮素用量处理, 分别为: (A) 纯氮 22.5 kg/hm²; (B) 纯氮 45.0 kg/hm²; (C) 纯氮 67.5 kg/hm²。各处理均施 90 kg/hm² P₂O₅, 135 kg/hm² K₂O 作基肥。

小区随机排列, 重复 3 次。所施肥料种类有专用复合肥、重钙、硫酸钾、硝酸钾, 基肥 追肥 窝肥=

70 20 10, 追肥使用 KNO₃, 在移栽后 25~30 d 内进行。留叶数为 22~24 片, 于 04-26 移栽, 田间规范化管理, 烟草植株长势长相均衡。

1.2 采样方法

从烟草植株打顶后开始, 每隔 10 d(最后 1 次隔 20 d) 取样 1 次, 选定各处理小区具有代表性的植株, 自下而上标记第 17~19 位可收叶, 测定多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性。留一部分鲜叶, 105℃ 下杀青 15 min, 之后于 65℃ 下恒温烘干, 用于测定多酚类物质含量。

1.3 测定项目与方法

多酚氧化酶采用剩余滴定法^[6]; 苯丙氨酸解氨酶采用紫外分光光度法^[7]; 总酚采用福林试剂法^[8]; 绿原酸采用紫外分光光度法^[9]; 类黄酮采用比色法^[7]; 蛋白质采用间接测定法^[8]; 芳香值采用多酚物质含量与蛋白质氮含量的比值表示^[10]。以上所有数据均为 3 次重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 多酚氧化酶(PPO)活性

多酚氧化酶是影响烟叶香气和外观质量的重要因素之一^[11], 不同处理上部叶片多酚氧化酶活性的变化如图 1 所示。由图 1 可以看出, 各处理多酚氧化

* [收稿日期] 2004-08-20

[基金项目] 国家烟草专卖局基金项目(110200302007)

[作者简介] 王爱华(1979-), 女, 河南西华人, 在读硕士, 主要从事烟草栽培生理生化研究。

[通讯作者] 宫长荣(1948-), 男, 河南荥阳人, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草调制与加工研究。

酶活性的变化趋势基本一致,均随成熟度的增加有先增后减的趋势,在打顶后 0~10 d 上升缓慢,而后开始急剧上升,至打顶后 20 d 达到 1 个峰值,然后

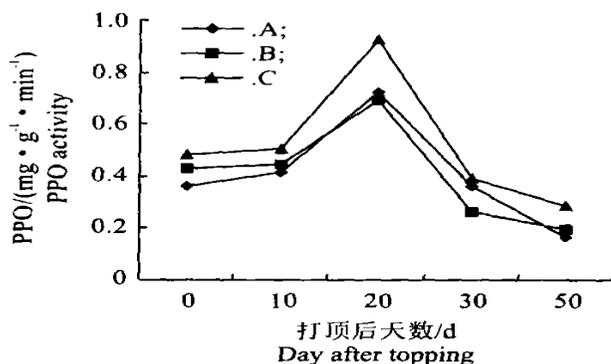


图 1 氮素用量对 PPO 活性的影响

Fig. 1 Effect of N rate on the activity of PPO

2.2 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性

由图 2 可知,在烟株打顶后 0~20 d,其 PAL 活性缓慢增强(处理 B 在打顶后略有下降),之后急剧上升,至打顶后 30 d 达到峰值,然后又迅速下降。其中处理 A 的 PAL 活性在打顶后 0~20 d 上升最为缓慢,峰值也最低。总体上看,以处理 C 的 PAL 活性最高,其峰值稍高于处理 B,但明显高于处理 A。

2.3 总酚含量的变化

植物多酚是植物次生代谢的产物,烟草中多酚

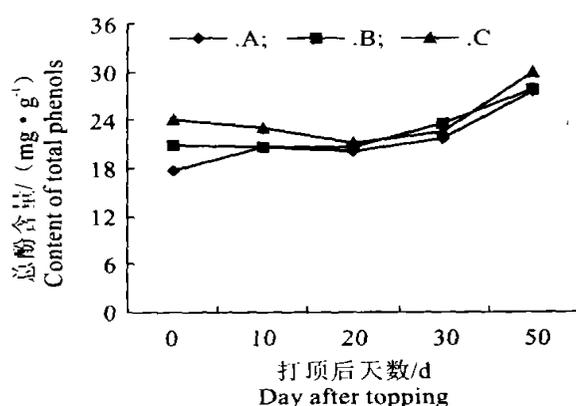


图 3 氮素用量对总酚含量的影响

Fig. 3 Effect of N rate on the content of total phenols

2.4 绿原酸、类黄酮含量的变化

由图 4 可知,处理 A 绿原酸含量呈“W”形变化,峰值出现在打顶后 50 d。处理 B 绿原酸含量在打顶后 0~10 d 呈上升趋势,打顶后 10~30 d 下降,之后又迅速上升。处理 C 绿原酸含量在打顶后 0~10 d 稍有下降,之后持续缓慢上升。

由图 5 可知,处理 C 类黄酮含量在打顶后 0~

又迅速下降。从图 1 还可知,处理 C 多酚氧化酶活性明显高于处理 A、B,而处理 A、B 多酚氧化酶活性差异不大。

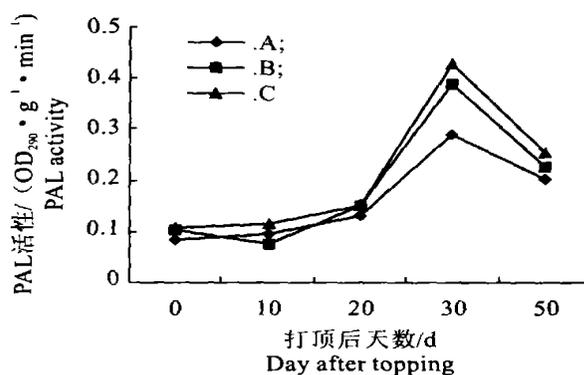


图 2 氮素用量对 PAL 活性的影响

Fig. 2 Effect of N rate on the activity of PAL

含量较高,其对烟草的生长及烟草的品质有显著影响^[12]。由图 3 可以看出,总酚含量总体上随成熟度增加呈缓慢上升趋势。处理 C 总酚含量在打顶后 0~20 d 呈缓慢下降趋势,而后持续上升,至打顶后 50 d 达到峰值。处理 B 总酚含量变化与处理 C 类似,打顶时总酚值稍低于处理 C。处理 A 总酚含量变化呈现先上升,打顶后 10~20 d 缓慢下降,之后又迅速上升的趋势。另由表 1 可知,烤后烟叶总酚含量明显高于烤前。

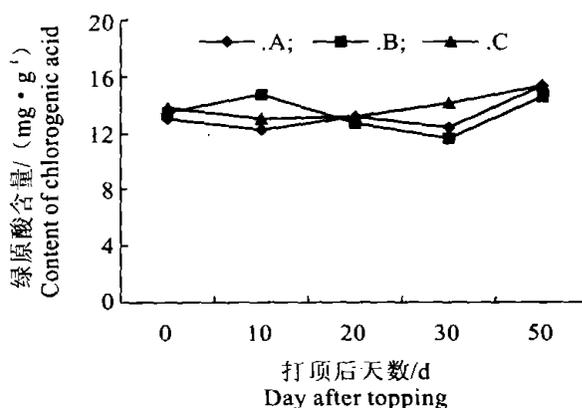


图 4 氮素用量对绿原酸含量的影响

Fig. 4 Effect of N rate on the content of chlorogenic acid
20 d 缓慢上升,在打顶后 20~30 d 基本维持不变,之后又迅速上升,至打顶后 50 d 达最高值。与处理 C 相比,处理 A 变化幅度较大,在打顶后 30 d 低于处理 B 和处理 C。处理 B 在打顶后 0~10 d 维持不变,而后以恒定速度持续上升。由图 4、5 及表 1 可知,烟叶烤后较烤前绿原酸、类黄酮含量高。

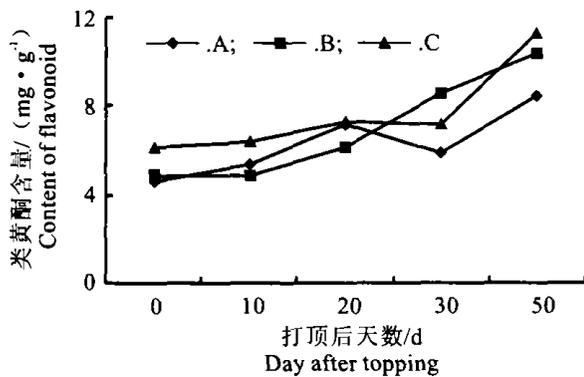


图5 氮素用量对类黄酮含量的影响

Fig. 5 Effect of N rate on the content of flavonoid

表1 烤后烟叶的多酚类物质含量及芳香值比较

Table 1 Effect of N rate on the content of polyphenols and aroma value of cured leaves

处理 Treatment	总酚/ (mg·g ⁻¹) Total phenols	绿原酸/ (mg·g ⁻¹) Chlorogenic acid	类黄酮/ (mg·g ⁻¹) Flavonoid	蛋白质/ (mg·g ⁻¹) Protein	蛋白氮/ (mg·g ⁻¹) Protein nitrogen	芳香值 Aroma value
C	39.03 a	22.02 a	16.09 a	99.44 a	15.91 a	2.45 c
B	38.01 b	21.64 b	13.73 b	76.00 c	12.16 c	3.13 a
A	36.02 c	21.29 c	13.40 c	85.69 b	13.71 b	2.63 b

注: 同列数据后标不同字母表示在 0.05 水平上差异显著。

Note: Significance at 0.05 level for different letters in the same column.

3 讨论

1) 多酚氧化酶是呼吸链末端氧化酶之一, 不但参与多酚类物质的氧化, 而且对烟叶外观颜色和内在质量有显著影响^[11]。本研究结果表明, PPO 活性随烟叶的成熟, 表现出先增后减的单峰曲线变化规律。施氮量为 22.5, 45.0 kg/hm² 处理的 PPO 活性, 总体上低于施氮量为 67.5 kg/hm² 的处理, 这表明适当减少氮肥用量可以降低 PPO 活性。而在烟叶烘烤过程中, PPO 活性高低是以前在大田生长期间所表现出的 PPO 活性为基础的, 因此, PPO 活性降低可能会改善烟叶的质量, 但不至于对其香气质量产生影响。

2) PAL 主要催化由苯丙氨酸到各种酚类物质的第一步反应, 为多种酚类及类黄酮终产物提供前体, 是酚类物质代谢的关键酶和限速酶^[13]。本研究结果表明, 各处理 PAL 活性随成熟进程而递增, 但中间稍有起伏。施氮量 45.0, 67.5 kg/hm² 处理的烟叶 PAL 活性接近, 但均高于施氮量 22.5 kg/hm² 处理。表明 PAL 的催化反应有利于烟叶的成熟, 并且总体上施氮量越高 PAL 活性越强。

3) 多酚类物质对烟草的生长发育、调制特性及烤后烟叶的色泽、烟气的香吃味和烟气生理强度等

2.5 烤后烟叶多酚类物质含量及芳香值的变化

从表 1 可以看出, 烤后烟叶总酚、绿原酸、类黄酮含量以处理 C 最高, 与处理 A 和处理 B 的差异达显著水平; 处理 B 高于处理 A, 差异也达 $\alpha=0.05$ 水平。处理 C 总酚含量较处理 B 高 2.68%, 比处理 A 高 8.36%; 处理 C 的绿原酸含量较处理 A 高 3.43%, 处理 B 较处理 A 高 1.64%; 类黄酮含量处理 C 比处理 A 高 20.07%, 处理 B 高于处理 A。由表 1 还可知, 蛋白质及蛋白氮含量表现为处理 C > 处理 A > 处理 B, 芳香值表现为处理 B > 处理 A > 处理 C, 且处理 B、处理 A 与处理 C 三者间均达显著差异。

均有重要影响, 是衡量烟叶品质的一个重要因素^[14]。绿原酸和类黄酮是烟叶中主要的多酚类物质^[11], 本研究结果表明, 各处理间多酚类物质差异显著, 且施氮量高的处理其总酚、绿原酸、类黄酮含量较高, 这与 Tso 等^[4]的研究结果一致。

4) 芳香值是衡量烟叶香吃味的重要参数^[10]。本研究结果表明, 烤后烟叶的总酚、绿原酸、类黄酮含量均表现为施氮量 67.5 kg/hm² 处理高于施氮量 22.5, 45.0 kg/hm² 处理, 与烤前鲜叶的基本结果保持一致; 但芳香值表现为施氮量 45.0 kg/hm² > 22.5 kg/hm² > 67.5 kg/hm², 原因是施氮量 67.5 kg/hm² 处理的蛋白质含量高(随氮用量增加烟叶蛋白质含量增高), 芳香值降低。

5) 从本试验结果可以看出, 增施氮肥一定程度上可以提高 PAL 活性和总酚、绿原酸、类黄酮含量, 但芳香值并不一定增加; 增施氮肥可提高多酚氧化酶活性, 鲜烟叶多酚氧化酶活性的高低与烘烤质量关系密切, 但烘烤过程中多酚氧化酶活性过高会造成烟叶质量下降。氮素用量提高在一定范围内可增加单位面积产量, 但也会使芳香值提高, 但氮素用量过高, 可导致烟叶蛋白质、烟碱含量增加, 芳香值降低, 影响烟叶的吸食品质。本试验结果表明, 以施氮量 45.0 kg/hm² 处理的多酚含量较高, 芳香值也高。

生产中,烟田氮素用量必须以土壤特性及水分等综合条件为前提,限定在一个适宜水平上。

[参考文献]

- [1] 阎新甫,韩锦峰 烟草多酚类化合物的研究进展[J]. 华北农学报,1987,(2): 31- 38
- [2] 胡国松 烤烟营养原理[M]. 北京: 科学出版社,2000
- [3] 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
- [4] Tso T C, Sorokin T P, Chn H, et al N itrogenous and phenolic compounds of *Nicotiana glauca* plants II: Selective incorporation of aromatic amino acids in phenolic compounds of tumorous *Nicotiana glauca* hybrids[J]. Bot Bull Acad Sinica, 1960, 8: 231- 235
- [5] William a C, Elliot J M. Influence of nitrogen, phosphorus, potassium and magnesium on the phenolic constituents of flue-cured tobacco [J]. Can J Plant Sci, 1978, 58: 543- 548
- [6] 白宝璋 植物生理学——测试技术[M]. 北京: 中国科学技术出版社,1993
- [7] 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社,1999
- [8] 王瑞新 烟草化学品质分析法[M]. 郑州: 河南科学技术出版社,1998
- [9] 武雪芬,李玉贤,侯怀恩,等. 金银花修剪枝中绿原酸含量测定[J]. 中药材,1996,19(2): 69
- [10] 钟庆辉 烟草芳香吃味化学指标的探索[J]. 烟草科技,1981,(4): 21- 23
- [11] 戴亚,施春华 烟草多酚氧化酶的分离提纯及性质研究[J]. 重庆烟草,2002,(2): 29- 32
- [12] 吴帽英,王宝华 烟草化学[M]. 北京: 中国农业科技出版社,1997. 42- 43
- [13] 江俊昌,余有本 苯丙氨酸解氨酶的研究进展[J]. 安徽农业大学学报,2001,(4): 425- 430
- [14] 徐晓燕,孙五三 烟草多酚类化合物的合成与烟叶品质的关系[J]. 中国烟草科学,2003,(1): 3- 5

The dynamic effects of nitrogen rate on polyphenols of flue-cured tobacco upper leaf

WANG A i-hua, WANG Song-feng, GONG Chang-rong

(College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: Effects of different nitrogen levels on the content of major polyphenols and changes of relative enzymes activity of field flue-cured tobacco upper leaf were studied. The results showed that with the rise of N application rates, the activity of PPO of fresh leaves tended upwards. The activity of PPO of all treatments rose first and then decreased. The trends of different disposals were similar and the activity of PPO reached the peak 20 days after topping. The activity of PAL also increased by increasing nitrogen rates. The activity of PAL of all treatments increased from topping and peaked 30 days after topping and then decreased quickly. Different N applications had some effects on the content of total phenols, chlorogenic acid, flavonoid. And the content of polyphenols was higher in the treatment of high nitrogen application. The content of polyphenols of cured leaves increased obviously with more N content in the fertilizer. The aroma value was highest in the treatment of 45.0 kg/hm².

Key words: flue-cured tobacco; nitrogen rate; upper leaf; polyphenols; PPO; PAL