

# 河南省不同地区烤烟碳氮代谢与衰老启动关系的分析

杜 铮<sup>1</sup>, 魏庆华<sup>1</sup>, 刘 卫群<sup>2\*</sup>

(1. 河南农业大学 烟草学院, 河南 郑州 450002; 2. 河南农业大学 生命科学学院, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 以烤烟 NC89 为材料, 研究了河南宝丰和确山两地区碳氮代谢关键物质和关键酶的变化趋势, 以及次生代谢物质的变化, 分析了两地区不同时期碳氮代谢的强度和协调程度。结果表明, 确山地区烤烟较低的碳代谢引起蔗糖的积累。由于游离氨的限制, 两地区谷氨酰胺合成酶的活性变化趋势基本一致。烟叶生长发育过程中, 宝丰烟叶碳代谢比确山高; 移栽后 98 d, 宝丰烤烟积累的蔗糖比确山烤烟高 160%, 加速了宝丰烤烟进入次生代谢的进程, 积累了较多的次生代谢物。

**关键词:** 烤烟; 衰老; 蔗糖; 谷氨酰胺合成酶; 次生代谢

**中图分类号:** S572 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)06-0052-04

## Analysis on the Relationship between Carbon and Nitrogen Metabolism of Tobacco and the Beginning of Senescence in Different Regions of Henan

DU Zheng<sup>1</sup>, WEI Qing-hua<sup>1</sup>, LIU Wei-qun<sup>2\*</sup>

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

2. College of Life Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Taking NC89 as materials, this article investigated the variation trends of the key materials and the key enzymes in carbon and nitrogen metabolism, and the variation trends of the secondary metabolites. In order to explain the beginning of senescence and its effect on the secondary metabolites, the intensity and the degree of coordination of carbon and nitrogen metabolism during different periods at both regions were analyzed. The results showed that the accumulation of sucrose was due to its low strength of carbon metabolism. Because of the restriction of free ammonia, glutamine synthetase (GS) activity was similar in both regions. In the tobacco growth process, tobaccos in Baofeng had stronger carbon metabolism than Queshan. At 98 days after transplanting, tobaccos in Baofeng had accumulated 160% sucrose than Queshan, which accelerated the secondary metabolism process of Baofeng and accumulated more secondary metabolites.

**Key words:** Tobacco; Senescence; Sucrose; GS; Secondary metabolism

叶片衰老是植物生长发育后期的一个重要自然生理现象, 是植物器官或组织逐渐走向功能衰退或死亡的变化过程。作为一种程序性细胞死亡 (programmed cell death, PCD) 过程, 衰老是植物的一种环境适应现象, 可促使植物进行矿质元素的循环利

用, 并有利于植物在逆境中生存<sup>[1]</sup>。在自然条件下, 衰老对植物的生态适应、自然选择和内部生理机制的应答等方面都具有积极意义, 但衰老引起植物各种功能的下降极大地限制了作物产量潜力的发挥<sup>[2]</sup>。

收稿日期: 2010-12-03

基金项目: 河南省烟草专卖局资助项目 (20081225)

作者简介: 杜 铮 (1985-), 女, 河南焦作人, 在读硕士研究生, 研究方向: 烟草生理生化。E-mail: duzheng1985@163.com

\*通讯作者: 刘卫群 (1954-), 女, 河北临州人, 教授, 博士, 主要从事烟草生理生化研究。E-mail: liuweiqun2004@126.com

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

蔗糖是高等植物光合作用的主要产物, 是碳运输的主要形式, 同时它也是触发衰老的因子, 因为糖分的积累抑制了光合基因的表达, 因此, 烟叶中糖分过早积累会引起烟叶的早衰。在氮利用率较低的情况下, 蔗糖诱发衰老会更明显。因为叶片衰老不只是一个单纯的退化过程, 它也是养分再循环的过程, 尤其是氮素的再动员<sup>[3]</sup>。碳氮代谢是烤烟植株最基本的代谢过程, 碳氮代谢强度、协调程度及其在烟叶生长和成熟过程中的动态变化模式会影响烤烟次生代谢过程, 从而直接或间接影响烟叶各类化学成分的含量和组成比例, 对烟叶品质产生重大影响。

许多研究已经明确河南烟区所产烟叶具有明显的浓香型风格, 但河南不同地区生产的烟叶在不同卷烟配伍中占有不同的份额, 比如河南宝丰烟叶在大中华和黄金树卷烟中占有一定的份额, 这表明在浓香型烟叶大概念中的烟区生产的烟叶还具有各自的特色, 且这种特色是其小的生态环境赋予的特质, 这种特质受栽培和施肥条件的影响不明显。为此, 分析了宝丰、确山两地区烟草在大田生长中后期碳代谢相关酶与烟叶启动生理衰老之间的关系, 以及启动生理衰老对次生代谢的影响, 以明确河南浓香型烟叶在不同地区表现出的特征。

1 材料和方法

1.1 材料

供试烤烟品种: NC89。2009 年从确山、宝丰烟区采集烟叶, 从移栽后 56 d 左右, 每间隔约 10 d, 取第 18 片叶(自下而上)于液氮中保存, 待测碳氮代谢关键酶活力, 杀青样品用冰盒保存取回。

1.2 方法

SPS(蔗糖磷酸合成酶, sucrose phosphate synthase)活性的测定采用蒽酮比色法<sup>[4]</sup>。INV(蔗糖转化酶, sucrose invertase)活性采用 3, 5-二硝基水杨酸比色法<sup>[5]</sup>测定。GS(谷氨酰胺合成酶)活性采用分光光度法测定, 以每毫克蛋白 30 min 内生成的  $\gamma$ -谷氨酰基氧肟酸在 540 nm 处的吸光值表示酶活性<sup>[6]</sup>。GDH(谷氨酸脱氢酶, glutamate dehydrogenase)活性测定采用紫外分光光度计法, 以每克样品中每分钟吸光值的变化表示酶活性<sup>[7]</sup>。化学成分和致香物质采用流动分析仪分析。

2 结果与分析

2.1 蔗糖与烤烟衰老启动的关系

从表 1 可以看出, 确山和宝丰两地区烤烟蔗糖含量在移栽后 78 d 时有最大值, 并且确山的高于宝

丰的。图 1 显示, SPS 的活性呈单峰曲线, 在 78 d 时其活力有最大值, 宝丰地区烤烟高于确山地区。从图 2 中看出, INV 的活性也表现为在 78 d 时有最高值, 并且宝丰地区烤烟 INV 的活性高于确山地区。这说明宝丰地区烤烟碳代谢的强度要高于确山地区。可能是确山地区烤烟 INV 的活性相对较低, 从而引起确山地区烤烟中蔗糖的积累。有试验证明, 碳水化合物产生控制着衰老的起始和持久性。蔗糖在库组织中的积累可以诱导早期衰老<sup>[8]</sup>。所以, 推断确山地区烟叶衰老的起始可能要比宝丰地区早。

表 1 河南省不同地区烤烟蔗糖含量变化趋势 %

地区	移栽后时间/ d				
	56	66	78	87	98
确山	0.59	0.58	2.54	0.64	0.69
宝丰	0.34	0.90	1.86	0.84	1.81

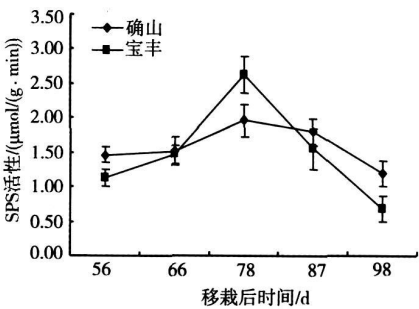


图 1 河南省不同地区烤烟 SPS 活性变化趋势

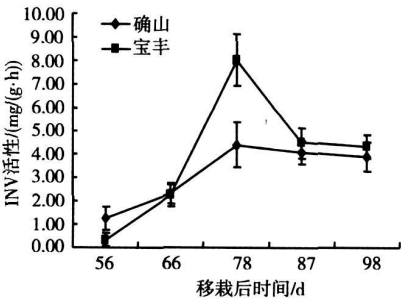


图 2 河南省不同地区烤烟 INV 活性变化趋势

2.2 GS 和 GDH 与烤烟衰老启动的关系

游离氨是参与氨同化的底物, 对 GS 的活性具有重要的调节作用<sup>[9]</sup>。表 2 显示, 确山、宝丰两地区烤烟游离氨的含量相差不大。所以, 推断可能是由于游离氨的含量相差无几, 引起确山、宝丰烤烟 GS 活性呈现基本一致的趋势(图 3)。

表 2 河南省不同地区烤烟游离氨含量变化趋势 mg/g

地区	移栽后时间/ d				
	56	66	78	87	98
确山	0.6030	0.6277	0.8300	1.1007	0.9435
宝丰	0.7703	0.9581	1.1795	1.2259	1.6242

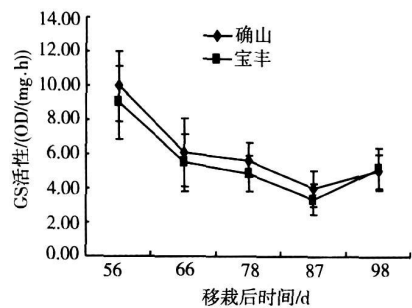


图 3 河南省不同地区烤烟 GS 活性变化趋势

GDH 在氮代谢中对 GS/GOGAT (谷氨酸合成酶) 循环起辅助作用<sup>[10-11]</sup>。它在植物体内催化  $\alpha$ -酮戊二酸的氨化和谷氨酸的脱氨这一可逆反应。GDH 作为一种适应性酶,它的作用主要由细胞内对谷氨酸和碳骨架的需求所决定<sup>[12]</sup>。当碳代谢受阻时, GDH 的活性会增加。从图 4 中可以看出, 确山、宝丰两地区烤烟 GDH 活性的变化趋势基本一致, 宝丰地区的始终略高于确山地区, 在 78d 以后, 差别逐渐明显。这可能是由于确山地区碳代谢的强度较低引起的。

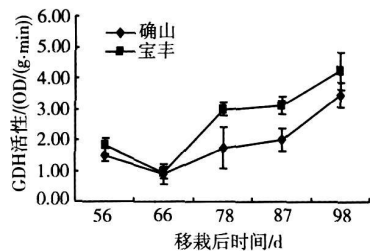


图 4 河南省不同地区烤烟 GDH 活性变化趋势

2.3 衰老的起始对次生代谢关键物质的影响

植物次生代谢物是初生代谢形成的一系列衍生物, 所以烤烟碳氮代谢的强度和协调程度也对次生代谢物的形成有一定的影响。从表 3 中可以看出, 宝丰地区烤烟类胡萝卜素的合成比确山地区早, 其降解也开始的较早。宝丰地区烤烟烟碱的合成相对较多并且持续增加, 苹果酸的积累也较多。这说明宝

表 3 河南省不同地区烤烟关键次生代谢物质变化趋势

次生代谢物	地区	移栽后时间/d				
		56	66	78	87	98
绿原酸/ (mg/g)	确山	0.56	0.87	2.53	1.45	3.97
	宝丰	0.38	1.05	3.24	1.80	1.72
类胡萝卜 素/ ( $\mu$ g/g)	确山	88.46	90.80	245.08	141.70	89.60
	宝丰	33.09	263.52	52.30	120.47	116.75
烟碱/%	确山	0.48	1.89	0.80	3.25	1.31
	宝丰	2.27	3.57	3.51	4.52	5.56
苹果酸/ (mg/g)	确山	29.23	39.73	21.57	61.49	20.97
	宝丰	52.38	93.79	82.34	107.65	122.41

丰地区烤烟次生代谢发生的较早, 可能是因为宝丰地区碳代谢较旺盛, 形成了较多的次生代谢物。

3 结论与讨论

蔗糖是高等植物体内最重要的一种碳水化合物, 是碳运输的主要形式, 也是贮藏器官中糖的重要存储形式。烤烟叶片中蔗糖的积累主要是蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 和蔗糖转化酶 (INV) 共同作用的结果。蔗糖磷酸合成酶催化蔗糖合成, 实质上具有不可逆性<sup>[13]</sup>, 这决定了 SPS 对蔗糖合成的重要性。蔗糖转化酶不可逆地催化蔗糖分解成为果糖和葡萄糖, 调节植物体组织中糖分的积累<sup>[14]</sup>。

GS 是参与氨同化和谷氨酰胺形成的主要酶, 催化下列反应:  $\text{L-谷氨酸} + \text{ATP} + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{L-谷氨酰胺} + \text{ATP} + \text{P}_i$ 。谷氨酰胺和谷氨酸是许多化合物生物合成的氮素供体<sup>[15]</sup>。确山、宝丰两地区 GS 活性差别不大, 变化趋势也是一致的。大量研究证明, 高等植物氨的同化是通过 GS/GOGAT 循环进行的, GOGAT 是限速酶, 催化谷氨酰胺和  $\alpha$ -酮戊二酸形成谷氨酸, 完成氨的初级同化<sup>[16]</sup>。谷氨酸进一步参与 GS 催化形成谷氨酰胺的反应。GS/GOGAT 循环在同化氨时需要不断的补充碳架, 以满足植物生长对氮的需求<sup>[9]</sup>, 所以碳代谢的强度间接对氮代谢有一定影响。

植物次生代谢是由初生代谢派生的一类特殊代谢过程, 是植物在长期进化中与环境相互作用的结果<sup>[17]</sup>。植物次生代谢物合成途径主要有苯丙烷代谢途径、异戊二烯代谢途径和生物碱合成途径。在苯丙烷代谢途径中, 苯丙氨酸经过多次酶促反应, 可以合成绿原酸、芸香苷、类黄酮、水杨酸等多酚类次生代谢物<sup>[18]</sup>。异戊二烯代谢途径可分别合成包括激动素、赤霉素、类胡萝卜素、甾醇、叶绿素等在内的单萜、倍半萜、二萜和多萜等次生代谢物<sup>[19]</sup>。烟碱是生物碱合成途径合成的主要物质, 也是影响烤烟品质的最关键的次生代谢物质。

对改变了碳水化合物供应能力的烟草进行蔗糖供应试验, 结果表明碳水化合物的产生控制着衰老的起始和持久性<sup>[20]</sup>。确山地区烤烟中蔗糖的积累引起它衰老的启动要早于宝丰地区, 蔗糖磷酸合成酶和蔗糖转化酶的活性都要低于宝丰地区, 说明宝丰烤烟碳代谢较强, 进一步影响次生代谢的强度和发生, 其结果是宝丰地区烤烟中积累了较多的次生代谢物质。由于游离氨的限制, 两地区 GS 和 GDH 的活性表现较一致, 两地区蔗糖含量的差别对氮代谢的影响不明显。

烤烟衰老的起始影响烤烟的品质, 烟叶中碳氮代谢的流向和分配是有一定规律的。通过栽培措施对碳氮代谢关键物质进行调控, 进而调控烤烟碳氮代谢的强度和协调程度, 影响次生代谢物质的形成, 达到控制烤烟衰老起始的早晚, 对形成优质特色烟叶有重要的意义, 这些有待于深入研究。

参考文献:

[ 1 ] Nooden L D, Singh S, Letham D S. Correlation of xylem sap cytokinin levels with monocarpic senescence in soybean[ J ]. Plant Physiol, 1990, 93: 33-39.

[ 2 ] 潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学[ M ]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1983: 164-180.

[ 3 ] Himelblau E, Amasino R M. Nutrients mobilized from leaves of *Arabidopsis thaliana* during leaf senescence[ J ]. Journal of Plant Physiology, 2001, 158: 1317-1323.

[ 4 ] Charles J B, Christine H F. Elevated sucrose-phosphate synthase activity in transgenic tobacco sustains photosynthesis in older leaves and alters development[ J ]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54: 1813-1820.

[ 5 ] Jutta E, Schmitz-Thom I, Hardy S, *et al.* RNA interference-mediated repression of cell wall invertase impairs defense in source leaves of tobacco[ J ]. Plant Physiology, 2008, 147: 1288-1299.

[ 6 ] O'neal D, Joy K W. Glutamine synthetase of pea leaves. Purification, stabilization, and pH optima[ J ]. Arch Biochem Biophys, 1973, 159: 113-122.

[ 7 ] Turano F J, Dashner R, Upadhyaya A, *et al.* Purification of mitochondrial glutamate dehydrogenase from dark-grown soybean seedlings[ J ]. Plant Physiol, 1996, 112: 1357-1364.

[ 8 ] Paul M J, Pellny T K. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development[ J ]. Exp Bot, 2003, 54: 539-547.

[ 9 ] 莫良玉, 吴良欢, 陶勤南. 高等植物 GS/GOGAT 循环研究进展[ J ]. 植物营养与肥料学报, 2001, 7(2): 223-231.

[ 10 ] Refouvelet E, Daguin F. Polymorphic glutamate dehydrogenase in ilac vitroplants as revealed by combined preparative IEF and native PAGE: Effect of ammonium deprivation, darkness and atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment upon isomerization[ J ]. Physiol Plant, 1999, 105: 199-206.

[ 11 ] Qusji G O, Madu W C. Ammonium ion salvage by glutamate dehydrogenase during defence response in maize[ J ]. Phytochemistry, 1996, 42: 1491-1498.

[ 12 ] Ireland R J, Lea P J. The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine and aspartate metabolism[ M ] // Plant Amino Acids, Biochemistry and Biotechnology. New York: Basel, 1999.

[ 13 ] Huber S C, Huber J L. Role and regulation sucrose phosphate synthase in higher plants[ J ]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1996, 47: 431-445.

[ 14 ] 刘慧英, 朱祝军. 转化酶在高等植物蔗糖代谢中的作用研究进展[ J ]. 植物学通报, 2002, 19(6): 666-674.

[ 15 ] 李常健, 林清华, 张楚富. 高等植物谷氨酰胺合成酶研究进展[ J ]. 生物学杂志, 2001, 18(4): 1-3.

[ 16 ] 马振勇, 绍立红. 玉米叶片谷氨酸合酶 GOGAT 的纯化和特性研究[ J ]. 玉米科学, 2009, 17(5): 82-84.

[ 17 ] 陈晓亚, 叶和春. 植物次生代谢及其调控[ M ] // 李承森. 植物科学进展. 北京: 高等教育出版社, 1998: 293-304.

[ 18 ] Dixon R A, Paiva N L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism[ J ]. Plant Cell, 1995, 7: 1085-1097.

[ 19 ] Chappell J. Biochemistry and molecular biology of the isoprenoid biosynthetic pathway in plants[ J ]. Anna Rev Plant Physiol Plant, 1995, 46: 521-547.

[ 20 ] Masclaux-Daubresse C, Carrayol E. The two nitrogen mobilization and senescence-associated GS1 and GDH genes are controlled by C and N metabolites[ J ]. Planta, 2005, 221: 580-588.

(上接第 48 页)

3) 在黄淮海一年两熟制下, 判定夏玉米最佳收获期, 还需要与另一茬作物联系起来, 考虑全年的产量, 所以在保证冬小麦或其他作物产量的情况下研究夏玉米最佳收获期更有意义<sup>[11]</sup>。河南当前存在玉米收获期与小麦种植期的时间差异, 在不影响小麦种植时间的情况下, 结合苞叶松散、籽粒黑层出现等指标延迟玉米收获期, 即在每年的 10 月 1—10 日收获夏玉米更切合实际, 更有利于全年产量的提高。

参考文献:

[ 1 ] 郭庆法, 王庆成, 汪黎明, 等. 中国玉米栽培学[ M ]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 9.

[ 2 ] 孟庆平, 张玉权, 常淑娟, 等. 玉米最佳收获期的主要相关性状研究初探[ J ]. 玉米科学, 2007, 15(S1): 117-118, 122.

[ 3 ] 李芳贤, 高谷, 王金林. 紧凑型与平展型玉米的最佳收获期[ J ]. 玉米科学, 1996, 4(3): 35-36.

[ 4 ] 杨国航, 张春原, 孙世贤, 等. 夏玉米籽粒收获期判定方法研究[ J ]. 作物杂志, 2006(5): 11-13.

[ 5 ] 鲍继友. 夏玉米最佳收获期试验研究[ J ]. 玉米科学, 1993, 1(3): 23-25.

[ 6 ] 吴建宇. 玉米不同收获期的籽粒品质研究[ J ]. 河南农业大学学报, 1994, 28(1): 92-94.

[ 7 ] 李东安. 玉米不同收获期试验研究[ J ]. 现代农业科技, 2008(24): 173, 175.

[ 8 ] 蒋中亚, 王桂芹, 郑单 958 玉米种植密度与适宜收获期试验初报[ J ]. 现代农业科技, 2007(17): 141, 143.

[ 9 ] 赵延明, 严敏, 董树亭. 不同发育时期玉米叶片保绿度遗传主效应及其与环境互作效应分析[ J ]. 华北农学报, 2008, 23(3): 42-45.

[ 10 ] 钱锦鑫, 李芬, 赵桂香, 等. 2004 年山西省玉米丰收的农业气象条件分析[ J ]. 山西农业科学, 2006, 34(2): 11-14.

[ 11 ] 江亚丽, 张凤路. 夏玉米籽粒发育动态研究[ J ]. 华北农学报, 2007, 22(增刊): 57-60.