

氮、磷、钾肥和土壤水分对烟草烤后叶中类胡萝卜素含量的影响

陈义强¹, 刘国顺^{1,*}, 凌爱芬¹, 张毅¹, 王芳¹, 习红昂²

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南阳市烟草公司, 河南南阳473000

摘要: 在每盆施用0~8 g纯氮、0~12 g P₂O₅、0~12 g K₂O的肥料范围内, 随着氮、磷、钾肥用量的增加, 烤后烟叶中类胡萝卜素含量增加。每盆施钾量超过12 g K₂O时, 再施钾肥对增加烤后烟叶中类胡萝卜素含量的效果不显著。随着土壤相对含水量的提高, 类胡萝卜素总量表现为先增加后减少的趋势。70%左右的土壤相对含水量的烟叶中类胡萝卜素含量最高。

关键词: 烤烟; 类胡萝卜素; 氮肥; 磷肥; 钾肥; 土壤水分

Effects of Nitrogen, Phosphate, Potassium Fertilizers and Soil Water on Carotenoids Contents of Flue-cured Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Leaves

CHEN Yi-Qiang¹, LIU Guo-Shun^{1,*}, LING Ai-Fen¹, ZHANG Yi¹, WANG Fang¹, XI Hong-Ang²

¹National Tobacco Cultivation, Physiology and Biochemistry Research Center, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; ²Tobacco Company of Nanyang City, Nanyang, Henan 473000, China

Abstract: The results showed that the increase of nitrogen, phosphate and potassium fertilizers would enhance the carotenoids contents of flue-cured tobacco leaves when the fertilizers were less than 8 g·pot⁻¹ N, 12 g·pot⁻¹ P₂O₅, and 12 g·pot⁻¹ K₂O. But potassium fertilizer which exceeded 12 g·pot⁻¹ K₂O had no obvious effect on carotenoids contents. The carotenoids contents went up first and then went down with the increase of relative soil water content, and the carotenoids contents in flue-cured tobacco leaves were highest with the treatment of about 70% of relative soil water content.

Key words: flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum*); carotenoid; nitrogen fertilizer; phosphate fertilizer; potassium fertilizer; soil water

烟叶中类胡萝卜素含量与烟叶品质密切相关, 它是烟草中大马酮、β-环柠檬醛、二氢猕猴桃内酯、β-紫罗兰酮、β-二氢大马酮和巨豆三烯酮等致香物质的重要前体物, 对烟叶香味品质的形成具有一定的作用(史宏志和刘国顺1998; 王瑞新2003)。有关烟草中类胡萝卜素的研究已有一些报告。Weybrew (1957)、韦凤杰等(2005)的研究表明, 类胡萝卜素含量随着烟草成熟的推进而逐渐下降。Burton和Kasperbauer (1985)的研究表明, 白肋烟中类胡萝卜素含量在烟叶打顶后呈下降趋势, 但下降幅度低于烤烟。Forrest和Vilcins (1979)的研究表明, 类胡萝卜素含量在调制期间降解加速。韦凤杰等(2006)的研究表明, 腐熟的芝麻饼肥显著促进类胡萝卜素积累。已有的烟草中类胡萝卜素的研究主要集中在烟叶成熟、调制和陈化过程中的变化规律, 而有关氮磷钾肥和水分因子对烟叶中类胡萝卜素的影响尚未见报道。为此, 本文用盆栽试验对此进行了研究, 探讨提

高我国烟叶香气质和香气量的途径, 为优质高香气烟叶的生产提供参考。

材料与方法

采用盆栽试验, 分氮、磷、钾、水分4个因素, 每个因素各设3个水平。按单因子试验进行, 研究氮肥因子时, 3个施氮水平分别为0、4、8 g纯氮, 磷肥固定为每盆6 g P₂O₅, 钾肥固定为每盆12 g K₂O, 土壤相对含水量固定为70%; 研究磷肥因子时, 3个施磷水平分别为0、6、12 g P₂O₅, 氮肥固定为每盆4 g纯氮, 钾肥固定为每盆12 g K₂O, 土壤相对含水量固定为70%; 研究钾肥因子时, 3个施钾水平分别为0、

收稿 2007-12-17 修定 2008-03-07

资助 烟草行业栽培重点实验室和国家烟草专卖局南阳优质烟生产科技示范基地建设项目(110200401004)。

* 通讯作者(E-mail: liugsh@371.net; Tel: 0371-63558128)。

12、24 g K₂O, 氮肥固定为每盆4 g 纯氮, 磷肥固定为每盆6 g P₂O₅, 土壤相对含水量固定为70%; 研究水分因子时, 3个土壤相对含水量分别为40%、70%、100%, 氮肥固定为每盆4 g 纯氮, 磷肥固定为每盆6 g P₂O₅, 钾肥固定为每盆12 g K₂O。水分以每天土壤相对含水量的平均值表示, 控制在±2%的波动范围, 具体处理见表1。

表1 实验处理

Table 1 The treatments in the experiment

编号	施纯氮量/ g·盆 ⁻¹	施P ₂ O ₅ 量/ g·盆 ⁻¹	施K ₂ O量/ g·盆 ⁻¹	土壤相对含水量/ %
1	0	6	12	70
2	8	6	12	70
3	4	0	12	70
4	4	12	12	70
5	4	6	0	70
6	4	6	24	70
7	4	6	12	40
8	4	6	12	100
9	4	6	12	70

试验于2006年在河南省方城县金叶园的遮雨篷内进行, 5月22日移栽烟苗。烟草(*Nicotiana tabacum* L.)品种为‘云烟87’, 土壤为黄褐土, pH值为7.09±0.08, 有机质为(12.07±1.42) g·kg⁻¹, 全氮为(791.2±54.8) mg·kg⁻¹, 全磷为(494.3±66.6) mg·kg⁻¹, 全钾为(26.81±3.36) g·kg⁻¹, 碱解氮为(76.16±4.16) mg·kg⁻¹, 速效磷为(33.12±2.06) mg·kg⁻¹, 速效钾为(76.03±4.50) mg·kg⁻¹。盆钵高40 cm, 盆口直径50 cm, 盆底直径45 cm。每个盆钵装土35 kg, 移栽1棵烟苗, 每个处理4盆, 共种植36盆。施用的肥料有KNO₃(分析纯)、K₂SO₄(分析纯)、KH₂PO₄(分析纯)、NaH₂PO₄·2H₂O(分析纯)、硝酸铵(含氮30%), 其中70%作为基肥施用, 30%作为追肥。

类胡萝卜素采用反相高效液相色谱法测定(刘国顺等2006)。仪器为HP1100高效液相色谱仪、Agilent可变波长紫外检测器、Agilent自动进样器、Sigma高速离心机。β-胡萝卜素标准品由Sigma公司生产(纯度>99%), 叶黄素、紫黄质、新黄质植物色素标准品由日本WAKO公司生产, 异丙醇和甲醇为色谱纯。色谱柱为Zorbax C₁₈柱

(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相为甲醇和异丙醇, 梯度洗脱; 流速为1.0 mL·min⁻¹; 柱温为30 °C; 进样量为5 mL; 紫外检测波长为445 nm。配制一定浓度的各物质的标准溶液, 并稀释成不同浓度梯度, 分别进行HPLC分析, 制作β-胡萝卜素、叶黄素、新黄质和紫黄质的标准曲线, 采用外标法进行定量。经过反复试验, 取流动相比合适的最佳梯度范围, 进行进样试验。

烤后中部烟叶于40 °C下烘干, 粉碎后过80目筛, 称取1.000 g样品, 加入40 mL 90%丙酮研磨(干烟叶避光放置24 h)后, 再振荡萃取30 min, 过滤, 滤渣再用40 mL 90%丙酮洗涤2~3次, 至滤渣为白色, 合并滤液, 定容至100 mL。移取1 mL滤液于1.5 mL离心塑料管中, 于4 °C下以6 600×g离心5 min, 取0.5 mL上清液, 用0.45 mm微孔过滤器过滤至进样瓶, 用外标法进行HPLC分析。

全氮用FOSS Kjeltac 2300全自动定氮仪测定, 回收率为99.27%; 全磷、全钾用美国瓦里安(VARIAN)的VISTA-MPX CCD Simultaneous ICP-OES(全谱直读等离子体发射光谱)测定。水解性氮用碱解扩散法测定, 速效磷用NaHCO₃法测定, 速效钾用乙酸铵提取法测定, 有机质用重铬酸钾容量法-稀释热法测定, pH值用电位法测定, 土壤含水量用环刀法测定(鲍士旦2000)。

用Excel、SPSS软件进行数据的统计与分析。

实验结果

1 烤后烟叶中类胡萝卜素各组分的含量

从图1可以看出, 烤后烟叶中的类胡萝卜素

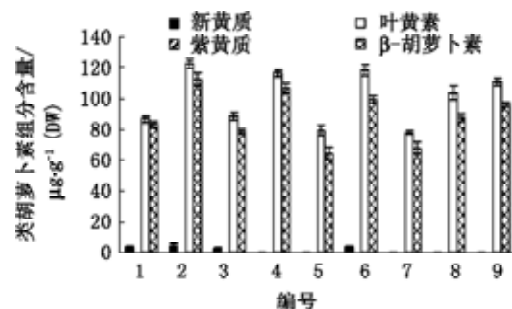


图1 不同处理的烤后烟叶中类胡萝卜素各组分含量变化
Fig.1 Changes of carotenoids component contents in flue-cured tobacco leaves with different treatments

基本上只剩下叶黄素和β-胡萝卜素,其含量分布区间为70~130 μg·g⁻¹ (DW),叶黄素含量略高于β-胡萝卜素含量。在9个处理中只有4个处理检测到新黄质,其含量都小于5 μg·g⁻¹ (DW),而紫黄质在9个处理中都没检测到。各处理的新黄质、叶黄素和β-胡萝卜素三者含量相加后的类胡萝卜素总量都小于250 μg·g⁻¹ (DW)。

2 氮肥对烤后烟叶中类胡萝卜素含量的影响

在盆栽条件下,当施氮量为每盆0~8 g 纯氮范围内,随着施氮量的增加,烤后烟叶中叶黄素、β-胡萝卜素和类胡萝卜素总量都增加。多重比较结果表明,叶黄素、β-胡萝卜素和类胡萝卜素含量在3个施氮水平间的差异都显著($P<0.05$)。说明增加氮肥可以促进烤后烟叶中叶黄素、β-胡萝卜素含量和类胡萝卜素总量的增加。

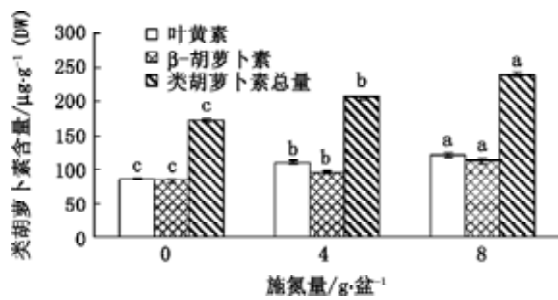


图2 施氮量对烤后烟叶类胡萝卜素含量的影响
Fig.2 Effects of nitrogen fertilization on carotenoids contents in flue-cured tobacco leaves
不同字母表示0.05水平上的差异显著性。下图同此。

3 磷肥对烤后烟叶类胡萝卜素含量的影响

从图3可以看出,在施磷量为每盆0~12 g P₂O₅范围内,随着施磷量的增加,烤后烟叶中β-胡萝卜素含量和类胡萝卜素总量都增加。多重比

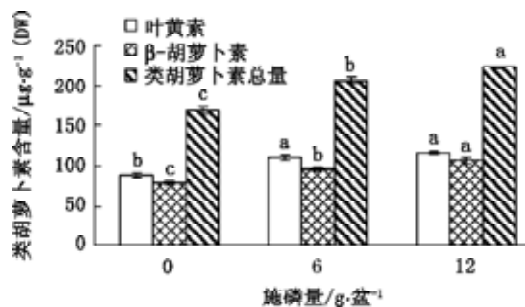


图3 施磷量对烤后烟叶类胡萝卜素含量的影响
Fig.3 Effects of P₂O₅ fertilization on carotenoids contents in flue-cured tobacco leaves

较结果表明,β-胡萝卜素含量和类胡萝卜素总量在3个施磷水平间的差异都显著。说明在每盆0~12 g P₂O₅的施磷量范围内,增施磷肥可以促进烟叶中β-胡萝卜素的积累。施磷肥的叶黄素含量与不施磷肥的差异显著,但每盆施12 g P₂O₅与6 g P₂O₅之间的差异不显著。

4 钾肥对烤后烟叶中类胡萝卜素含量的影响

从图4可以看出,每盆施12和24 g K₂O的烤后烟叶中叶黄素含量、β-胡萝卜素含量和类胡萝卜素总量都高于不施钾肥的。多重比较结果表明,施钾肥的叶黄素、β-胡萝卜素含量和类胡萝卜素总量与不施钾肥的之间差异显著;而施24 g K₂O的略高于施12 g K₂O的,但差异不显著。

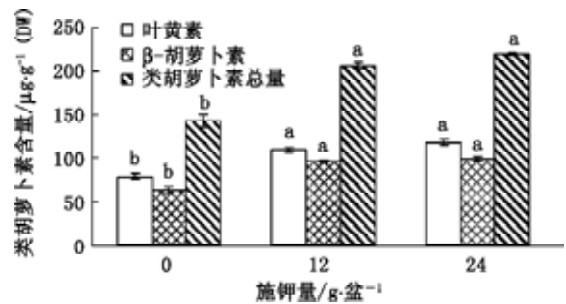


图4 施钾量对烤后烟叶类胡萝卜素含量的影响
Fig.4 Effects of K₂O fertilization on carotenoids contents in flue-cured tobacco leaves

5 土壤相对含水量对烤后烟叶中类胡萝卜素含量的影响

从图5可以看出,不同土壤相对含水量对烤后烟叶中叶黄素、β-胡萝卜素含量和类胡萝卜素总量的促进效应依次为70%>100%>40%。多重比较结果表明,烤后烟叶中叶黄素含量和β-胡萝卜

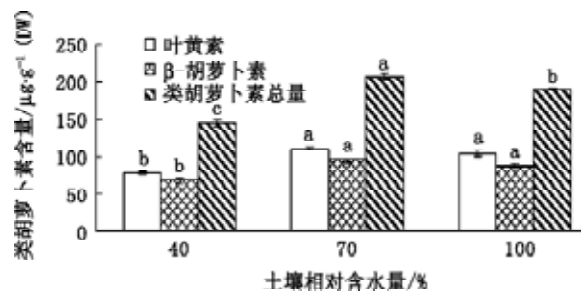


图5 土壤相对含水量对烤后烟叶类胡萝卜素含量的影响
Fig.5 Effects of the relative soil water content on carotenoids contents in flue-cured tobacco leaves

素含量在40%和70%两个土壤相对含水量间以及40%和100%之间差异均显著,但70%和100%之间差异不显著。类胡萝卜素总量在3个土壤相对含水量处理之间差异都显著。说明70%左右的土壤相对含水量比较有利于烤后烟叶中叶黄素、 β -胡萝卜素和新黄质的积累。

讨 论

新鲜烟叶中类胡萝卜素类色素主要有叶黄素、新黄质、紫黄质和 β -胡萝卜素(左天觉1993)。在调制期间高度氧化的新黄质和紫黄质等几乎全部分解(史宏志和刘国顺1998),烤后烟叶中类胡萝卜素基本上只剩下叶黄素和 β -胡萝卜素。本文结果表明,烤后烟叶中类胡萝卜素以叶黄素和 β -胡萝卜素为主要成分,也有少量的新黄质,但其含量都小于 $5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW),而紫黄质则未检测到。这与前人结果基本上一致。

烤后烟叶中的类胡萝卜素含量以 $300\sim 400 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)左右为宜(史宏志和刘国顺1998;王瑞新2003),而我国烤后烟叶中类胡萝卜素含量很少有超过 $200 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)的(杨虹琦等2004,2005),因此提高烟叶中类胡萝卜素含量是提高我国烟草香气质而量的途径之一。影响烟叶中类胡萝卜素合成的因素很多,除了光照、海拔和大气中氧等环境和生态因素以外,遗传基础和营养条件对类胡萝卜素的生物合成也有明显影响,如增加碳源和氮源的供给量均可提高类胡萝卜素生物合成的产量(韩锦峰等1993;史宏志和刘国顺1998;惠伯棣2005)。所以,人们试图用育种、转基因技术、改善栽培措施、调制方法等各种途径提高烟叶中的类胡萝卜素含量,以达到提高烟叶的香气量。李雪君等(2006)的研究表明,法呢基焦磷酸合酶(fps)转基因烟草株系中大马酮和巨豆三烯酮等类胡萝卜素降解产物的含量都有不同程度的提高。刘国顺等(2004)的研究表明,钾肥可提高烟叶的类胡萝卜素类中性致香物质含量。韦凤杰等(2006)的工作表明,施用饼肥可显著促进烟叶中叶黄素和 β -胡萝卜素的积累。本文结果也表明,在每盆施用 $0\sim 8 \text{g}$ 纯氮、 $0\sim 12 \text{g}$ P_2O_5 、 $0\sim 12 \text{g}$ K_2O 的肥料范围内,随着氮、磷、钾肥施用量的增加,烤

后烟叶中类胡萝卜素含量增加。而当每株施钾量超过 12g K_2O 时,再施钾肥对增加烤后烟叶中类胡萝卜素含量的效果不明显。随着土壤相对含水量的提高,类胡萝卜素总量表现为先增加后减少的趋势,70%左右的土壤相对含水量下种植的烟叶中类胡萝卜素的积累量最大。这些对生产优质烟叶都有一定的参考价值,至于其中的机制尚待进一步探讨。

参考文献

- 鲍士旦(2000). 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 39~60, 79~57, 99~107
- 韩锦峰, 刘维群, 扬素勤, 吕巧玲, 韩富根, 洪涛, 王彦亭, 侯文华, 黄元炯(1993). 海拔高度对烤烟香气物质的影响. 中国烟草, (3): 1~3
- 惠伯棣(2005). 类胡萝卜素化学及生物化学. 北京: 中国轻工业出版社, 40~55
- 李雪君, 崔红, 刘海礁, 王燕萍(2006). *fps* 转基因烤烟类胡萝卜素及其降解产物的研究. 中国烟草科学, (3): 25~27
- 刘国顺, 韦凤杰, 王芳, 李亚娟, 郭桥燕, 黄晓书(2006). 反相高效液相色谱法测定烤烟叶片发育过程中的类胡萝卜素类物质. 色谱, 24 (2): 161~163
- 刘国顺, 叶协锋, 王彦亭, 李雪利, 马丽霞(2004). 不同钾肥施用量对烟叶香气成分含量的影响. 中国烟草科学, (4): 1~4
- 史宏志, 刘国顺(1998). 烟草香味学. 北京: 中国农业出版社, 106~112, 180~216
- 王瑞新(2003). 烟草化学. 北京: 中国农业出版社, 91~95, 196~201
- 韦凤杰, 范艺宽, 刘国顺, 王芳, 李亚娟, 郭巧燕(2006). 饼肥对烤烟叶片发育过程中质体色素降解及相关酶类活性的影响. 作物学报, 32 (5): 766~771
- 韦凤杰, 刘国顺, 杨永锋, 王芳, 李亚娟, 郭巧燕(2005). 烤烟成熟过程中类胡萝卜素变化与其降解香气物质关系. 中国农业科学, 38 (9): 1882~1889
- 杨虹琦, 周冀衡, 罗泽民, 杨述元(2004). 不同产区烤烟中质体色素及降解产物的研究. 西南农业大学学报(自然科学版), 26 (5): 640~644
- 杨虹琦, 周冀衡, 杨述元, 王勇, 周清明, 罗泽民(2005). 不同产区烤烟中主要潜香型物质对评吸质量的影响研究. 湖南农业大学学报(自然科学版), 31 (1): 11~14
- 左天觉编著(1993). 朱尊权译. 烟草的生产、生理和生物化学. 上海: 上海远东出版社, 386~396
- Burton HR, Kasperbauer MJ (1985). Changes in chemical composition of tobacco lamina during senescence and curing. 1. Plastid pigments. J Agric Food Chem, 33: 879~883
- Forrest G, Vilcins G (1979). Determination of tobacco carotenoids by resonance raman spectroscopy. J Agric Food Chem, 27: 609~612
- Weybrew JA (1957). Pigment changes in tobacco during natural and induced senescence. Tob Sci, 1: 6~8