

钨酸钠对成熟期烤烟碳氮代谢、硝酸盐含量及烟叶品质的影响

邵惠芳^{1*}, 牛桂言¹, 韩丹¹, 王晓丽², 曹丽君², 王亚虹¹, 刘志宏¹, 黄五星¹, 许自成¹

¹河南农业大学烟草学院, 河南郑州450002; ²湖北省烟草公司襄阳市公司, 湖北襄阳441000

摘要: 本文采用田间试验, 对打顶后生长过旺的烟株喷施不同浓度钨酸钠, 研究其对烤烟碳氮代谢酶活性、硝酸盐、亚硝酸盐含量以及烟叶化学成分的影响。结果发现, 钨酸钠处理烟株的蔗糖转化酶活性表现为先降低后略微升高的趋势, 淀粉酶活性整体表现出先下降后上升又略有下降的趋势, 其中对照烟叶的酶活性显著小于处理烟株。硝酸还原酶的活性表现为先升高后降低, 钨酸钠处理烟株的硝酸还原酶活性显著下降。说明打顶后对生长过旺的烟株喷施钨酸钠在一定程度上减弱了烟株的氮代谢, 减少了打顶后对氮素的持续利用, 促进烟叶成熟落黄。喷施0.5和1.0 mmol·L⁻¹钨酸钠能显著降低烤后烟叶的硝酸盐含量, 而喷施1.0和1.5 mmol·L⁻¹钨酸钠能显著降低亚硝酸盐的含量。整体来看, 喷施钨酸钠对上部叶的影响大于中部叶, 其中喷施1.0 mmol·L⁻¹钨酸钠的上部叶硝酸盐和亚硝酸盐含量的下降幅度最大, 分别达到31.73%和20.23%。同时, 施用钨酸钠增加了烤后烟叶钾含量, 降低了氯和烟碱的含量, 烟叶化学成分协调。综合看来, 以喷施1.0 mmol·L⁻¹的钨酸钠效果较好。

关键词: 钨酸钠; 烤烟; 碳氮代谢; 硝酸盐; 亚硝酸盐; 品质

碳氮代谢是烟草最基本的代谢过程, 碳氮代谢之间的协调程度以及两者在烟叶生长过程中相互转化直接或间接地影响烟叶化学成分的含量及其比值, 对烟叶品质的形成具有重大影响(史宏志和韩锦峰1998; 段旺军等2012)。烟株打顶后, 顶端优势消除, 如果受到如土壤、气候等外界环境条件以及栽培管理措施不当等人为因素的影响, 烟株则会因吸收氮素过多, 造成二次生长(戚莹等2016), 烟叶品质则会受到破坏。湖北襄阳烟区烟叶生长后期温度偏低, 加上氮肥残留过多而前期干旱后期雨水较多, 导致烟叶生长过旺, 且烤后烟叶硝酸盐含量较高。而烟叶成熟期是决定烟叶品质好坏的重要时期, 协调好打顶后烟叶的碳氮代谢, 对提高烟叶产量和质量具有重要作用(吕中显等2010)。

烟叶氮代谢包括无机氮(硝态氮)的还原、同化及有机含氮化合物的转化、合成等过程(郭传滨2008)。硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)是氮代谢的关键酶, 在一定程度上可代表氮代谢的强度。NR活性的调节主要通过NR的磷酸化作用, NR活性水平与磷酸化水平关系密切(Huber等1992)。NR在有光的条件下去磷酸化, 此时NR活性就会升高(Kaiser和Huber 1994)。NR是同源二聚体, 包含三个功能区钼辅酶(MoCo)、细胞色素(Cytc)和黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)。钼原子(Mo)是组成NR的重要部分, 直接关系到硝酸盐还原过程的电子转移, 参与硝态氮还原为铵的过程。而钨原子(W)性质与钼原子作用类似, 可以取代NR复合体中的

钼, 从而可以抑制NR活性(杨荣等2012; Yu等2010; Moura等2004)。因此钨酸钠(Na₂WO₄)常被作为NR的抑制剂。硝酸盐、亚硝酸盐是形成强致癌物质亚硝胺(TSNA)的前体物, 硝酸还原酶对氮代谢的调节是通过对硝态氮(NO₃⁻)的还原来实现的, 烟叶的亚硝酸盐含量与其硝酸还原酶活性水平有关(乔海涛等2016)。本试验通过对生长过旺的烟叶喷施NR抑制剂钨酸钠, 研究其对烤烟成熟期碳氮代谢的调节及对硝酸盐含量的影响, 以期对提高打顶后生长过旺烟叶的品质提高参考。

材料与方法

1 供试材料

试验于2016年在湖北省襄阳市南漳县薛坪镇。南漳县位于湖北省西北部, 试验地薛坪镇海拔700 m左右, 属于亚热带季风气候。烟叶生长期降雨量较多, 昼夜温差较大。供试品种为当地主栽烟草(*Nicotiana tabacum* L.)品种‘K326’。供试土壤为黄壤土, 基础土壤养分状况为: 有机质43.57 mg·kg⁻¹, 碱解氮261.53 mg·kg⁻¹, 速效磷29.5 mg·kg⁻¹, 速效钾282 mg·kg⁻¹, pH为7.34。试验所需试剂钨酸钠由索莱宝公司提供。

收稿 2017-04-05 修定 2017-09-06

资助 中国烟草总公司湖北省公司重点科技攻关项目(027Y2016-007)。

* 通讯作者(E-mail: shf.email@163.com)。

2 试验设计

试验设4个处理,钨酸钠喷施浓度分别为0、0.5、1和1.5 mmol·L⁻¹,分别用CK、T1、T2和T3表示。各处理均于烟株打顶当天下午16:00以后进行整株叶面喷施,以叶背、叶面均匀喷施即可,每个处理100株。打顶当天及处理后每隔10 d取烟叶样品,共取3次,对烟叶进行各项指标测定。烟叶于当地5月10日采取井窖式移栽,株距55 cm,行距110 cm,7月21日打顶,单株留叶数在20~22片左右。试验地田间管理按优质烟叶标准化生产管理进行。

3 测定项目与方法

3.1 碳氮代谢酶的测定

于打顶当天以及打顶后10、20、30 d对中部叶(10~12叶位)进行鲜样的采集,选取具有代表性的烟株,剪取距离叶尖1/3处两支脉之间鲜烟片,将其混合均匀后用铝箔纸和纱布裹好,迅速置于液氮中保存,带回实验室进行酶活性的测定。硝酸还原酶活性采取活体法进行测定(高俊凤2006),谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)采用分光光度法测定(连培康等2016)。淀粉酶(amylase, AM)和蔗糖转化酶(invertase, Inv)均用3,5-二硝基水杨酸法测定(邹琦2000)。

3.2 烤后烟叶样品的生化指标测定

每个处理选取烤后烟叶中桔三(C₃F)和上桔二(B₂F)等级烟叶各1 kg,粉碎后过60目筛,用于烟叶各项常规化学成分及硝酸盐、亚硝酸盐含量的测定。硝酸盐采用分光光度法测定(戴亚等2000),亚硝酸盐用紫外可见分光光度法测定(王丽丽等2013)。烤后烟叶的水溶性总糖含量采用DNS法测定(陈勇等2011),总氮采用凯氏定氮法测定(章平泉等2011),烟碱含量采用比色法测定(李维莉等2012),钾离子含量采用火焰光度计法(陈伟华等2010),氯离子含量采用滴定法(孔浩辉等2008)。

4 数据处理

采用Excel 2016和SPSS 21.0软件进行数据处理和分析。

实验结果

1 不同浓度钨酸钠对打顶后烟叶碳氮代谢酶活性的影响

1.1 不同浓度钨酸钠对Inv活性的影响

Inv是植物碳代谢的关键酶,参与植物细胞分

化和生长发育的调控。可催化细胞质中蔗糖转化形成单糖,加速叶绿体中淀粉转化,为烟叶生长和其他有机化合物的形成提供碳源及能源(秦燕青等2007; Ma等1996)。它可以反映烟株对碳的固定以及转化代谢的强弱,是烟株碳代谢强弱的重要指标。由图1可以看出,在打顶后的各时期中,烟叶Inv活性除对照一直呈下降趋势外,其它各处理均表现为先降低后略微升高的趋势。在打顶当天,Inv活性在各处理之间没有显著性的差异,说明此时期各处理的碳代谢强度基本一致。打顶后10 d,处理T3的Inv活性最高,表现为T3>T2>T1>CK。打顶后20和30 d,钨酸钠处理烟株的Inv活性较对照显著升高,均表现为T2和T3较高,对照最低。说明喷施钨酸钠可以不同程度地提高转化酶的活性,加强烟叶的碳代谢。

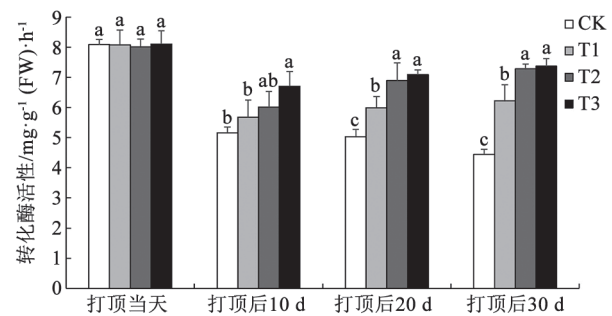


图1 不同浓度钨酸钠对打顶后烟叶转化酶活性的影响

Fig.1 Effects of Na₂WO₄ with different concentrations on invertase activities in tobacco leaves after topping

小写字母不同表示同一时期不同处理间差异达到显著($P < 0.05$)水平,下图表同此。

1.2 不同浓度钨酸钠对AM活性的影响

AM可将叶绿体中积累的淀粉转化为单糖,活性高低影响淀粉的积累量,活性高则淀粉积累多,并且光合速率也高(李雪利等2011)。同时,在烟叶成熟期间,AM活性高有利于烟叶品质的形成(张金霖等2006)。由图2可以看出,随着打顶时间的推移,烤烟的AM活性整体表现出先下降后上升又略有下降的趋势。打顶当天各处理的差异较小,其它时期各处理之间差异较显著。打顶后10 d, T3处理的AM活性最高,对照最低,表现为T3>T2>T1>CK,但T2、T3以及T1与CK之间的差异未达到显著差异。打顶后20 d, AM的活性均表现为升高,而到30 d后整体稍微降低,均以处理T2的AM活性

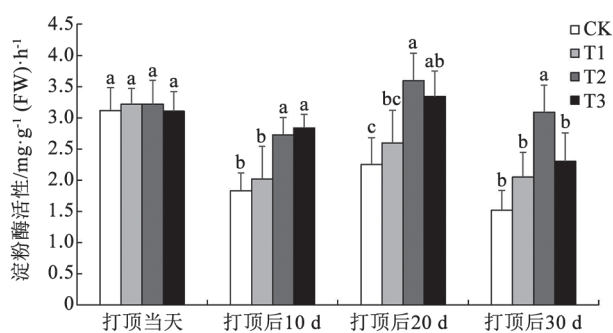


图2 不同浓度钨酸钠对打顶后烟叶淀粉酶活性的影响

Fig.2 Effects of Na_2WO_4 with different concentrations on amylase activities in tobacco leaves after topping

较高, 对照最低, 表现为 $\text{T2} > \text{T3} > \text{T1} > \text{CK}$ 。说明一定浓度的钨酸钠可以提高AM的活性, 进而影响烟株的各项代谢活动。

1.3 不同浓度钨酸钠对NR活性的影响

NR是一种诱导酶, 大多认为, NR存在于高等植物根、叶的细胞质中, NR可直接调节 NO_3^- 的还原, 硝态氮则是植物利用氮素的主要形式, 因此NR可调节氮代谢, 并且NR活性的高低对烟株氮代谢强弱以及烟株的营养状况起主要调控作用(刘丽等2004)。由图3可见, 随着打顶的进行, NR活性表现为先升高后降低。在打顶当天, 各处理的差异不显著, 随着打顶时间的增加, 打顶后10 d, 各处理的NR活性达到最大值, 打顶后30 d, 降低到最小, 且期间处理T2、T3均显著低于对照。可见, 喷施钨酸钠减弱了烟株的氮代谢水平, 且钨酸钠浓度与NR的活性呈负相关。

1.4 不同浓度钨酸钠对GS活性的影响

GS位于叶绿体中, 参与氨的同化和转移以及

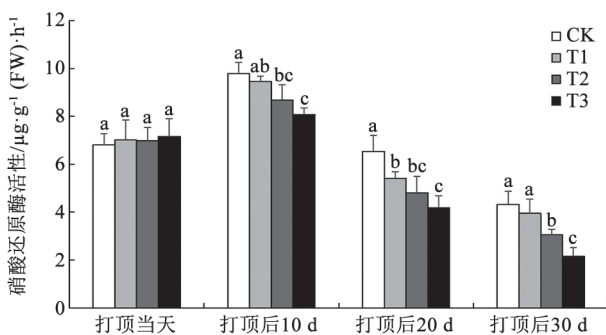


图3 不同浓度钨酸钠对打顶后烟叶转化酶活性的影响

Fig.3 Effects of Na_2WO_4 with different concentrations on nitrate reductase activities in tobacco leaves after topping

无机代谢, 活性大小影响着氮素的利用效率(葛国锋等2014)。由图4可以看出, 随着打顶时间的推移, GS与NR的变化规律相似, 均呈现先升高后降低的趋势。打顶当天, 各处理间差异不显著。打顶后10 d, 各处理GS均达到最大值; 打顶后30 d, GS活性降到最低。打顶后的3个时期, 处理T2和T3均显著低于对照。说明钨酸钠不仅抑制烟叶NR活性, 同时影响GS活性, 进而影响烟叶的氮代谢。

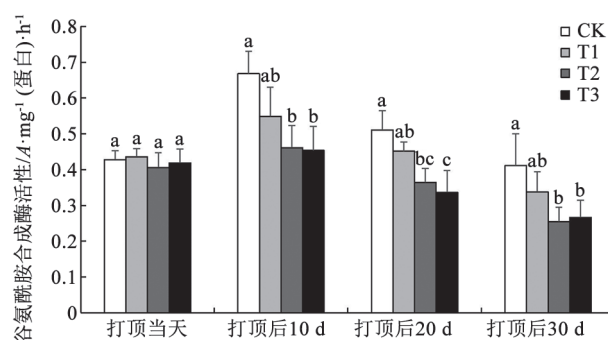


图4 不同浓度钨酸钠对打顶后烟叶谷氨酰胺合成酶活性的影响

Fig.4 Effects of Na_2WO_4 with different concentrations on glutamine synthetase activities in tobacco leaves after topping

2 不同浓度钨酸钠对烤后烟叶硝酸盐和亚硝酸盐的影响

硝酸盐和亚硝酸盐是烟草中的一类含氮化合物, 两者与TSNA的形成有关, 一般认为亚硝酸盐是形成TSNA的前体物质, 硝酸盐则是形成亚硝酸盐的前体物(陈秋会和赵铭钦2008)。由表1可见, T1处理的硝酸盐和亚硝酸盐的含量均下降, 其中, T1处理的上部叶和中部叶硝酸盐含量分别显著降

表1 不同浓度钨酸钠对烤后烟叶上部叶、中部叶中硝酸盐和亚硝酸盐含量的影响

Table 1 Effects of Na_2WO_4 with different concentrations on nitrate and nitrite in the upper leaves and middle leaves of flue cured tobacco

处理	硝酸盐含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$		亚硝酸盐含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	
	上部叶	中部叶	上部叶	中部叶
CK	23.10 ^a	29.12 ^a	6.08 ^a	8.43 ^a
T1	19.11 ^b	27.77 ^b	5.82 ^a	8.12 ^a
T2	15.77 ^b	23.79 ^c	4.85 ^b	7.32 ^b
T3	24.45 ^a	29.82 ^a	4.72 ^b	7.26 ^b

低17.27%和4.64%。T2处理的硝酸盐和亚硝酸盐含量也均显著降低,上部叶的硝酸盐和亚硝酸盐含量的下降幅度分别为31.73%和20.23%,中部叶的分别降低18.30%、13.17%。而T3处理的硝酸盐含量与对照相比有所增加;亚硝酸盐含量则显著降低,上部叶和中部叶分别下降22.37%和13.88%。总体来说,T2处理可以显著降低烟株的硝酸盐和亚硝酸盐含量。

3 不同浓度钨酸钠对烤后烟叶化学成分的影响

3.1 不同浓度钨酸钠对上部叶烤后烟叶化学成分的影响

由表2可知,上部烟叶各化学成分指标的不同处理间都存在显著差异。钨酸钠处理烟株的总氮和烟碱含量均下降,且随着处理浓度的增加,总氮和烟碱含量下降越多,表现为T3<T2<T1<CK。氮碱比以T3处理显著高于其他处理,T1、T2处理间

表2 不同浓度钨酸钠对烤后烟叶上部叶、中部叶化学成分的影响

Table 2 Effects of Na₂WO₄ with different concentration on chemical composition of upper leaves and middle leaves of flue cured tobacco

叶位	处理	总氮含量/%	总糖含量/%	烟碱含量/%	钾含量/%	氯含量/%	糖碱比/%	钾氯比/%	氮碱比/%
上部叶	CK	2.47±0.14 ^a	17.81±1.63 ^c	3.27±0.09 ^a	1.16±0.17 ^a	0.20±0.02 ^a	5.45±0.43 ^d	5.89±0.36 ^b	0.75±0.03 ^c
	T1	2.22±0.08 ^a	18.25±0.78 ^{bc}	2.52±0.16 ^b	1.23±0.21 ^b	0.16±0.02 ^b	7.26±0.67 ^c	7.85±1.24 ^a	0.89±0.07 ^b
	T2	1.94±0.07 ^b	20.14±0.95 ^{ab}	2.02±0.06 ^c	1.43±0.20 ^a	0.15±0.03 ^b	9.96±0.63 ^b	9.82±0.96 ^a	0.96±0.06 ^b
	T3	1.91±0.10 ^b	21.25±1.01 ^a	1.78±0.11 ^d	1.12±0.12 ^a	0.22±0.01 ^a	11.96±0.92 ^a	5.21±0.34 ^b	1.07±0.02 ^a
中部叶	CK	2.27±0.08 ^a	16.75±1.31 ^b	3.03±0.05 ^a	1.52±0.15 ^a	0.29±0.03 ^a	5.60±0.63 ^b	5.11±0.92 ^b	0.77±0.17 ^b
	T1	2.03±0.09 ^a	16.97±1.34 ^b	2.63±0.34 ^a	1.77±0.12 ^a	0.21±0.03 ^b	6.49±0.62 ^b	8.38±0.64 ^a	0.78±0.08 ^b
	T2	1.89±0.16 ^{ab}	20.24±1.34 ^a	1.89±0.06 ^b	1.71±0.11 ^{ab}	0.18±0.03 ^b	10.71±1.65 ^a	9.48±0.86 ^a	1.00±0.09 ^a
	T3	1.84±0.09 ^b	21.33±1.07 ^a	1.76±0.18 ^b	1.55±0.08 ^{ab}	0.30±0.04 ^a	12.23±1.43 ^a	5.19±0.59 ^b	1.04±0.06 ^a

差异不显著,但均显著高于对照。总糖含量以对照最低,钨酸钠各处理均不同程度提高烟叶的总糖含量以及糖碱比,平均分别提高6.01%、75.17%。钾含量和钾氯比均以处理T2最高,比对照分别提高23.28%、66.72%,氯含量以处理T2最低,T1次之,对照最高。

3.2 不同浓度钨酸钠对中部叶烤后烟叶化学成分的影响

由表2可知,不同浓度钨酸钠处理对中部叶总氮和烟碱含量的影响与上部叶相似,均以对照的含量最高,处理T3最低,T2次之,两者差异不明显。同时钨酸钠处理提高了烟叶氮碱比,处理T2与T3较对照显著增加。但钨酸钠处理对中部叶钾含量影响不显著;氯含量均以T2较低,T3最高,表现为T3>CK>T1>T2。烟叶钾氯比以T2较高,T3最低,其中T1和T2分别比对照提高63.99%和85.51%,T3与对照无明显差异。总糖含量随着处理浓度的升高而升高,且处理之间差异显著,糖碱比与总糖表现规律相似。

讨 论

打顶是为了减少烟株营养的无意义消耗,提

高烟叶品质。但是打顶造成烟株体内碳氮代谢发生变化,目前对打顶后烟株的调控报道较多关于施用植物生长调节剂(许自成等2008;李健忠等2015)。而对于生长过旺的烟株,许东亚等(2016)研究酶抑制剂对烤烟成熟期氮代谢的影响,发现在烟株成熟期喷施10 mg·L⁻¹浓度的谷氨酰胺合成酶(GS)抑制剂(草胺磷)能够降低烤烟GS和NR活性。武云杰等(2014)的研究结果与其一致,表明GS抑制剂能够减弱烤烟成熟期的氮代谢,促进烟株落黄。本试验通过喷施NR抑制剂的结果表明,Inv活性表现为先降低后略微升高的趋势,AM活性整体表现出先下降后上升又略有下降的趋势,这与许自成等(2007)的研究稍有差别。NR和GS活性表现为先升高后下降的趋势,这与彭丽丽等(2009)的研究一致。且随着钨酸钠浓度的增加,NR和GS活性下降较多,这与黄海涛等(2013)的研究一致。而在打顶10 d时烟株的NR和GS活性增加,可能是由于烟株打顶后刺激了根系对氮素的吸收利用。在打顶后喷施钨酸钠,可以通过对碳氮代谢酶的调节,使烟株的碳氮代谢发生转化,减弱了烟株的氮代谢,烟株碳代谢在一定程度上增强。从而减缓

了生长过旺盛的烟株在打顶后对氮素的持续利用, 缩短了烟株的生长周期, 避免烟株过旺生长。总体来看, 处理T2 ($1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钨酸钠)更有利于烟株碳氮代谢的转化, 有利于烟株的生长。

NR活性可以调节亚硝酸盐的生成, 较高NR活性在一定程度上促进硝酸盐向亚硝酸盐的转化(梁思威2013)。本试验结果表明, 喷施钨酸钠不同程度降低了硝酸盐和亚硝酸盐的含量。 0.5 和 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钨酸钠处理的NR活性下降, 但是烤后烟样硝酸盐含量并未升高, 可能是由于打顶前期NR活性较高, 硝酸盐在NR的作用下, 被还原为亚硝酸盐, 另一部分硝酸盐转化成了部分烟碱, 并未全部还原为亚硝酸盐。打顶后期处理烟株的NR活性下降, 且与对照相比差异显著, 硝酸盐转化较少, 烟株的硝酸盐和亚硝酸盐含量并未升高。 $1.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钨酸钠处理的硝酸盐含量有所增加, 可能是由于后期NR活性过低, 导致了硝酸盐的积累。而对照烟株的N素供应较大, 烟株NR的活性一直较高, 导致硝酸盐和亚硝酸盐的积累。综合看来, $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钨酸钠处理的中部叶和上部叶硝酸盐、亚硝酸盐含量的降低较显著。

烤后烟叶的化学成分含量及其协调程度对烟叶的香吃味、刺激性等吸食品质具有较大的影响。一般认为优质烤烟要求总糖含量 $18\%\sim 22\%$, 总氮和烟碱含量为 $1.5\%\sim 3.5\%$, 钾氯比 $4\sim 10$, 糖碱比 $8\sim 12$ (连培康等2016), 糖碱比对卷烟的吸味和刺激性影响较大, 一般比值在 10 左右为宜(孙丹2010)。氮碱比以 1 或略小于 1 为宜。此时, 烟味温和而且刺激性低, 香吃味较好。本研究结果表明, 喷施不同浓度的钨酸钠在不同程度上具有提高烟叶钾含量, 降低烟叶氯、烟碱和总氮的含量, 且烟叶糖碱比、钾氯比、氮碱比等指标在优质烤烟要求的范围内, 使烟叶的化学成分更趋于协调。可能原因是由于钨酸钠显著抑制了NR活性, 使烟叶氮素降解较多, 叶片加速衰老, 以及碳氮代谢酶活性的协调, 有利于淀粉蛋白等物质的转化以及氮素的再转移。综合各项指标分析可知, 本试验以 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钨酸钠处理的效果较好, 烟叶的化学成分协调, 能够满足优质烤烟的需求。

综上所述, 从经济和作用效果来看, 喷施 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钨酸钠能够协调打顶后生长过旺的烟株

碳氮代谢, 降低烟叶硝酸盐、亚硝酸盐的含量, 且烟叶化学成分协调。但关于钨酸钠的作用机理以及对各项指标影响的机理仍需进一步探索。

参考文献

- Chen QH, Zhao MQ (2008). Study on the ways of reducing the contents of nitrate and nitrite of tobacco leaves. *Southwest China J Agric Sci*, 21 (02): 508–512 (in Chinese with English abstract) [陈秋会, 赵铭钦(2008). 降低烟叶中硝酸盐和亚硝酸盐含量的途径. *西南农业学报*, 21 (02): 508–512]
- Chen WH, Bao FW, Zhang XJ, Su GS (2010). Determination of potassium in flue-cured tobacco by microwave digestion-continuous flow flame photometry method. *Anal Test Technol Instr*, 16 (02): 120–122 (in Chinese with English abstract) [陈伟华, 鲍峰伟, 张晓静, 苏国岁(2010). 微波消解-连续流动火焰光度法测定烤烟中的钾含量. *分析测试技术与仪器*, 16 (02): 120–122]
- Chen Y, Tao DX, Lu LM (2011). Optimization of DNS method for determination of reducing sugar in tobacco. *Jiangsu Agric Sci*, 9 (05): 393–395 (in Chinese) [陈勇, 陶德欣, 鲁黎明(2011). DNS法测定烟草还原糖条件的优化. *江苏农业科学*, 39 (05): 393–395]
- Dai Y, Fang L, Lu DT, Liu QB, Xuan XQ (2000). Determination of nitrate in tobacco by spectrophotometer. *Chin Tob Sci*, (02): 33–35 (in Chinese with English abstract) [戴亚, 方力, 陆登梯, 刘启斌, 宣晓泉(2000). 分光光度法测定烟草中的硝酸盐. *中国烟草科学*, (02): 33–35]
- Duan WJ, Li DL, Dai Y, Yang TZ, Li N, Wang CG (2012). Inorganic naccumulation and its physiological regulation in senescing leaves of flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cultivars. *Plant Physiol J*, (6): 544–548 (in Chinese with English abstract) [段旺军, 李东亮, 戴亚, 杨铁钊, 李宁, 汪长国(2012). 不同烤烟品种衰老叶片的无机氮积累及其生理调控. *植物生理学报*, (6): 544–548]
- Gao JF (2006). *Experimental Guidance in Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press (in Chinese) [高俊凤(2006). *植物生理学实验指导*. 北京: 高等教育出版社]
- Ge GF, Wng SH, Liu WQ (2014). Effects of nitrogen fertilizer on activities of key enzymes of carbon and nitrogen metabolism of different flue-cured tobacco varieties. *J Agric Sci Technol*, 16 (1): 59–64 [葛国锋, 王树会, 刘卫群(2014). 氮肥对不同烤烟品种碳氮代谢关键酶活性的影响. *中国农业科技导报*, 16 (1): 59–64]
- Guo CB (2008). The research of the effect of exognoussubstances on ripe of the mature-delayed tobacco [Master's thesis]. Zhengzhou: HennaAgricultural University (in Chinese with English abstract) [郭传滨(2008). 外源物质对烤烟成熟期黑暴促黄效果的研究(硕士论文). 郑州: 河南农业大学]
- Huang HT, Rong XM, Song HX, Liu Q, Liao Q, Luo JP, Gu JD, Guan CY, Gong JM, Zhang ZH (2013). Effect of nitrate reductase (NR) inhibitor on NR activity in oilseed rape (*Brassica napus* L.) and its relation to nitrate content. *Acta Agron Sin*, 39 (9): 1668–1673 (in Chinese with English abstract) [黄海涛, 荣湘民, 宋海星, 刘强, 廖琼, 罗继鹏, 顾继东, 官春云, 龚继明, 张振华(2013). 外

- 源硝酸还原酶(NR)抑制剂对油菜植株内NR活性的影响及其与硝酸盐含量的关系. 作物学报, 39 (09): 1668-1673]
- Huber JL, Huber SC, Campbell WH, Redinbaugh MG (1992). Reversible light/dark modulation of spinach leaf nitrate reductase activity involves protein phosphorylation. *Arch Biochem Biophys*, 296 (1): 58-65
- Kaiser WM, Huber SC (1994). Posttranslational regulation of nitrate in leaves in higher plants. *Plant Physiol*, 106 (3): 817-821
- Kong HH, Guo XH, Shen GL, Zhang XY, Zhang YM, Shi WZ, Huang QF (2008). Improvement of continuous flow analysis for determining chlorine in tobacco. *Tobacco Sci Tech*, (02): 28-32, 41 (in Chinese with English abstract) [孔浩辉, 郭璇华, 沈光林, 张心颖, 张优茂, 施文庄, 黄清芬(2008). 烟草中氯含量连续流动分析法的改进. 烟草科技, (02): 28-32, 41]
- Li JZ, Xue LX, Zhu JF, Xu ZC, Xu Y, Jin L, Hao HH, Su Q (2015). Effects of brassinolide and auxin on growth, carbon and nitrogen metabolism and tobacco quality of flue-cured tobacco leaves after topping. *Chin J Eco-Agric*, 23 (11): 1404-1412 (in Chinese with English abstract) [李健忠, 薛立新, 朱金峰, 许自成, 许仪, 金磊, 郝浩浩, 苏谦(2015). 打顶后喷施油菜素内酯和生长素对烤烟田间生长、碳氮代谢及烟叶品质的影响. 中国生态农业学报, 23 (11): 1404-1412]
- Li WL, Ma YH, Duan YJ, Xu JC (2012). Determination of free nicotine tobacco by ultraviolet spectrometry. *J Anhui Agric Sci*, 40 (6): 3600-3601 (in Chinese with English abstract) [李维莉, 马银海, 段姚俊, 徐济仓(2012). 紫外分光光度法测定烟草中的游离烟碱. 安徽农业科学, 40 (6): 3600-3601]
- Li XL, Ye XF, Gu JG, Li YT, Ma JS, Liu GS (2011). Effect of soil C/N ratio on activity of key enzymes involved in carbon and nitrogen metabolism and quality of flue-cured tobacco leaves. *Acta Tab Sin*, 17 (03): 32-36 (in Chinese with English abstract) [李雪利, 叶协锋, 顾建国, 李彦涛, 马静思, 刘国顺(2011). 土壤C/N比对烤烟碳氮代谢关键酶活性和烟叶品质影响的研究. 中国烟草学报, 17 (03): 32-36]
- Lian PK, Xu ZC, Meng LM, Liu BQ, Zhai X, Chen X, Huang HG (2016). Comparison of carbon and nitrogen metabolism of flue-cured tobacco in different altitudes in Wumeng tobacco-growing area of Guizhou. *Plant Nutr Fert Sci*, 22 (01): 143-150 (in Chinese with English abstract) [连培康, 许自成, 孟黎明, 刘炳清, 翟欣, 陈雪, 黄化刚(2016). 贵州乌蒙烟区不同海拔烤烟碳氮代谢的差异. 植物营养与肥料学报, 22 (01): 143-150]
- Liang SW (2013). Study on mechanism of exogenous substances reducing TSNA content in burley tobacco [Master's thesis]. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [梁思威(2013). 外源物质降低白肋烟TSNA含量及其机制的研究(硕士论文). 武汉: 华中农业大学]
- Liu L, Gan ZI, Wang XZ (2004). Advances of studies on the regulation of nitrate metabolism of plants at nitrate reductase level. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, (07): 1355-1361 (in Chinese with English abstract) [刘丽, 甘志军, 王宪泽(2004). 植物氮代谢硝酸还原酶水平调控机制的研究进展. 西北植物学报, (07): 1355-1361]
- Lv ZX, Zhao MQ, Zhao JH, Zhang D, Zhang XJ, Liu HH (2010). Dynamic changes of activities of key enzymes in carbon and nitrogen metabolism in flue-cured tobacco of different positions after topping and correlation Analysis. *Acta Agric Univ Jiangxi*, 32 (04): 700-704 (in Chinese with English abstract) [吕中显, 赵铭钦, 赵进恒, 张迪, 张学杰, 刘洪华(2010). 烤烟打顶后不同部位烟叶碳氮代谢关键酶活性的动态变化及相关分析. 江西农业大学学报, 32 (04): 700-704]
- Ma BL, Morrison MJ, Dwyer LM (1996). Canopy light reflectance and field greenness to assess nitrogen fertilization and yield of maize. *Agron J*, 88: 915-920
- Moura JJ, Brondino CD, Trincão J, Romão MJ (2004). Mo and w bimgd enzymes: nitrate reductases and formate dehydrogenases. *J Biol Inor Chem*, 9 (7): 791-799
- Peng LL, Han FG, Xie YY, Song PF, Zhang FX, Shen Z, Wang XH (2009). Effects of nitrogen level on TSNA precursors content and nitrate reductase activities in flue-cured tobacco. *Acta Tab Sin*, 15 (03): 35-38 (in Chinese with English abstract) [彭丽丽, 韩富根, 解莹莹, 宋鹏飞, 张凤侠, 沈铮, 王校辉(2009). 氮用量对烤烟叶片TSNA前体物含量及硝酸还原酶活性的影响. 中国烟草学报, 15 (03): 35-38]
- Qi Y, Li XR, Wu YJ, Hou BQ, Zhang JH, Zhang XQ, Zhai X, Yang TZ (2016). Nitrogen metabolism characteristics of Bijie specific tobacco leaves at leaf decrepitude period. *Guizhou Agric Sci*, 44 (03): 59-64 (in Chinese with English abstract) [戚莹, 李晓睿, 武云杰, 侯冰清, 张景华, 张小全, 翟欣, 杨铁钊(2016). 毕节自育特色烤烟品种烟叶衰老期的氮代谢特征. 贵州农业科学, 44 (03): 59-64]
- Qiao H, Shi G, Xu J, Sun Z (2016). Changes of nitrate reductase activity and nitrite content of toonasinensis buds in different harvesting times. *Shandong Agric Sci*, 48 (1): 51-53 (in Chinese with English abstract) [乔海涛, 时桂英, 徐建余, 孙子岳(2016). 不同采收期红香椿硝酸还原酶活性及亚硝酸盐含量的变化. 山东农业科学, 48 (1): 51-53]
- Qin YQ, Li CJ, Zhao ZX (2007). Effects of rates and methods of nitrogen application on growth and nitrogen uptake of flue-cured tobacco. *Plant Nutr Fert Sci*, 13 (3): 436-442 (in Chinese with English abstract) [秦燕青, 李春俭, 赵正雄(2007). 不同供氮方式和施氮量对烤烟生长和氮素吸收的影响. 植物营养与肥料学报, 13 (3): 436-442]
- Shi HZ, Han JF (1998). Discussion on several problems of carbon and nitrogen metabolism in flue cured tobacco. *Tobacco Sci Tec*, (02): 34-36 (in Chinese) [史宏志, 韩锦峰(1998). 烤烟碳氮代谢几个问题的探讨. 烟草科技, (02): 34-36]
- Sun D (2010). Effect of NAA on carbon and nitrogen metabolism and quality of flue-cured tobacco after topping [Master's thesis]. Fujian: Fujian Agriculture. and Forestry University (in Chinese with English abstract) [孙丹(2010). 打顶后涂抹NAA对烤烟碳氮代谢及品质调节效应的研究(硕士论文). 福建: 福建农林大学]
- Wang LL, Cao JB, Yu SW, Wang YB, Ding GS, Xia FJ (2013). Determination of nitrite contents in flue-cured tobacco with ultraviolet-visible spectrophotometry. *Tobacco Sci Technol*, (1): 64-67, 72 (in Chinese with English abstract) [王丽丽, 曹建敏, 于卫松, 王允白, 丁根胜, 夏范讲(2013). 紫外可见分光光度法测定烤烟中亚硝酸盐的含量. 烟草科技, (1): 64-67, 72]

- Wu YJ, Yang TZ, Zhang XQ (2014). The influence of glutamine synthetase inhibitors on nitrogen metabolism of tobacco leaves during senescence period. *Chin Tobacco Sci*, 35 (01): 37-42 (in Chinese with English abstract) [武云杰, 杨铁钊, 张小全(2014). 谷氨酰胺合成酶抑制剂对衰老期烟叶氮代谢的影响. *中国烟草科学*, 35 (01): 37-42]
- Xu DY, Sun JW, Yang HJ, Xu FH, Jiao ZH, Sun WS, Shi HZ (2016). Inhibitory effects of enzyme on nitrogen metabolism at mature stage and quality of cured tobacco leaves. *Tobacco Sci Technol*, (03): 17-23 (in Chinese with English abstract) [许东亚, 孙军伟, 杨惠娟, 徐发华, 焦哲恒, 孙楦淑, 史宏志(2016). 酶抑制剂对烤烟成熟期氮代谢及烤后烟叶品质的影响. *烟草科技*, (03): 17-23]
- Xu ZC, Zhang T, Lu XP, Zhang YJ (2007). Effects of applying indole-3-acetic acid (IAA) and potassium on carbon and nitrogen metabolism of flue-cured tobacco after topping. *Chin J Ecol*, 26 (04): 461-465 (in Chinese with English abstract) [许自成, 张婷, 卢秀萍, 张延军(2007). 打顶后施用生长素(IAA)和钾肥对烤烟碳氮代谢的影响. *生态学杂志*, 26 (04): 461-465]
- Xu ZC, Zhang T, Lu XP, Zhang YJ (2008). Effects of applying auxin and potassium fertilizer on root characters and leaf quality of flue-cured tobacco after topping. *Acta Tobacco Sin*, 14 (02): 26-30 (in Chinese with English abstract) [许自成, 张婷, 卢秀萍, 张延军(2008). 打顶后施用生长素和钾肥对烤烟根系性状及品质的影响. *中国烟草学报*, 14 (02): 26-30]
- Yang R, Qu WH, Wang CH, Wang XY (2012). Effects of nitrate reductase inhibitor Na_2WO_4 on nitrate accumulation in oilseed rape. *Plant Physiol J*, 48 (01): 51-56 (in Chinese with English abstract) [杨荣, 邱炜红, 王朝辉, 王小英(2012). 硝酸还原酶抑制剂钨酸钠对油菜硝态氮积累的影响. *植物生理学报*, 48 (01): 51-56]
- Yu M, Hu CX, Sun XC, Wang YH (2010). Influences of mo on nitrate reductase, glutamine synthetase and nitrogen accumulation and utilization in mo-efficient and mo-inefficient winter wheat. *J Agric Sci*, 9 (3): 355-361
- Zhang JL, Chen JJ, Lv YH, Chen YM, Deng SY (2006). Effects of branching-after-topping on chlorophyll content and nitrate reductase and amylase activities of early-flowering tobacco Leaves during ripening period. *Plant Physiol J*, (06): 1045-1049 (in Chinese with English abstract) [张金霖, 陈建军, 吕永华, 陈永明, 邓世媛(2006). 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. *植物生理学报*, (06): 1045-1049]
- Zhang PH, Jin DM, Du XM, Han ZQ (2011). Determination of total nitrogen in tobacco and tobacco products by automatic kjeldahl nitrogen analyzer. *Tobacco Sci Technol*, 46 (3): 43-45 (in Chinese with English abstract) [章平泉, 金殿明, 杜秀敏, 韩志强(2011). 自动凯氏定氮仪测定烟草及其制品中的总氮. *烟草科技*, 46 (3): 43-45]
- Zou Q (2000). *Experimental Guide of Plant Physiology*. Beijing: China Agriculture Press (in Chinese) [邹琦(2000). *植物生理学实验指导*. 北京: 中国农业出版社]

Effects of Na_2WO_4 on carbon and nitrogen metabolism at mature stage, nitrate content and tobacco quality of flue-cured tobacco leaves

SHAO Hui-Fang^{1,*}, NIU Gui-Yan¹, HAN Dan¹, WANG Xiao-Li², CAO Li-Jun², WANG Ya-Hong¹, LIU Zhi-Hong¹, HUANG Wu-Xing¹, XU Zi-Cheng¹

¹College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; ²Xiangang Branch of Hubei Provincial Tobacco Company, Xiangyang, Hubei 441000, China

Abstract: The field experiment was conducted to study the effects of Na_2WO_4 with different concentrations on the activities of carbon and nitrogen metabolism, the contents of nitrate and nitrite, and chemical composition of leaves in overgrown tobacco after topping. The results showed that the invertase activity showed a trend of decreasing at first and then slightly higher, and the activity of amylase showed the trend of decrease firstly, then rise, and then decrease slightly under Na_2WO_4 treatments. The enzyme activities of the control leaves were always significantly lower than those of the treated tobacco. The activity of nitrate reductase increased firstly and then decreased, and the activity of nitrate reductase in tobacco plants treated with Na_2WO_4 was significantly decreased. This suggested that spaying Na_2WO_4 on overgrown tobacco after topping, to a certain extent, weakened the nitrogen metabolism of tobacco plants, sustainable utilization of nitrogen decreased after topping, and promote ripening. The treatments of 0.5 and 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2WO_4 could significantly reduce the content of nitrate in flue-cured tobacco leaves, and spaying 1.0 and 1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2WO_4 could significantly reduce the content of nitrite. On the whole, the effect of Na_2WO_4 on the upper leaves was greater than that on the middle leaves. The decrease rate of nitrite and nitrate in the upper leaves were 31.73% and 20.23% respectively, under the treatment of 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2WO_4 . Application of Na_2WO_4 increased the potassium content, decreased chlorine and nicotine contents in flue-cured tobacco, and coordinated the chemical components of tobacco leaves. Generally speaking, the effect of spraying 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2WO_4 was better.

Key words: Na_2WO_4 ; flue-cured tobacco; carbon and nitrogen metabolism; nitrate; nitrite; tobacco leaf quality

Received 2017-04-05 Accepted 2017-09-06

This work was supported by the Science and Technology Project of Hubei Province Tobacco Company (Grant No. 027Y2016-007).

*Corresponding author (E-mail: shf.email@163.com).