

不同外形烤烟鲜烟叶防御酶活性和组织结构比较分析*

黄永成¹, 孙建锋², 宋朝鹏¹, 官长荣^{1**}

(1. 河南农业大学农学院, 河南 郑州 450002; 2. 云南省曲靖市烟草公司, 云南 曲靖 655000)

摘要: 对不同外形烤烟鲜烟叶的组织结构和防御酶活性进行了研究。结果表明, 不同外形的鲜烟叶的组织结构存在显著性差异, 防御酶活性各不相同。其中, 黑褐色烟叶组织结构致密, 防御酶 PPO, POD 和 SOD 活性最小, MDA 活性最大; 黄绿相间烟叶的防御酶 POD 和 SOD 活性最大; 卷曲烟叶的组织结构非常疏松, 防御酶 PPO 活性最大, 而 MDA 活性最小。

关键词: 烤烟; 烟叶外形; 组织结构; 防御酶

中图分类号: S 572.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X (2008) 01-0052-04

Comparison and Analysis of the Organization Structure and Defense Enzyme Activity in the Unflue-cured Tobacco Leaves of Different Shape

HUANG Yong-cheng¹, SUN Jian-feng², SONG Zhao-peng¹, GONG Chang-rong¹

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

2. Qujing Tobacco Company of Yunnan Province, Qujing 655000, China)

Abstract: The organization structure and defense enzyme activity in the unflue-cured tobacco leaves of different shape were studied. The results showed that the organization structure in the unflue-cured tobacco leaves of different shape achieved the remarkable level, the enzyme activities were different, the organization structure of snuffcolored tobacco leaves was tight, the activities of PPO, POD and SOD were at the lowest point, while the activity of MDA was at the highest point. The activities of POD and SOD were the highest in the yellow and green alternative tobacco leaves. The organization structure of curly tobacco leaves was very loose, the activity of PPO was the highest, but the activity of MDA was the lowest.

Key words: flue-cured tobacco; leaf shape; organization structure; defense enzyme

烤烟烟叶外形因品种、水肥条件、气温、光照等因素不同而有差异, 如田间烟叶呈卵圆形、椭圆形、心脏形、披针形等。并且, 同一田块的烟叶因营养不良、气温低、病害等影响也会出现黑褐斑块、鞋形、变黄不规则等。同一植株上叶片也有差异, 一般中部叶厚薄适中, 叶片较大; 下部叶较薄, 叶片较小; 上部叶较厚、窄长, 开

片度较小。已有的关于烤烟烟叶组织结构和防御酶活性报道不少^[1~4], 但是迄今为止对不同外形烟叶组织结构和防御体系酶活性尚未见报道。本文针对目前规范化栽培条件下不同外形鲜烟叶的品质潜势特点, 对不同外形烟叶的组织结构和防御酶活性作了较为深入的研究, 探讨大田烟叶发生畸形的原因, 旨为优质烟叶栽培提供理论依据。

收稿日期: 2007-03-05 修回日期: 2007-04-27

* 基金项目: 国家烟草专卖局科技攻关项目资助 (110200302007) ** 通讯作者

作者简介: 黄永成 (1982-), 男, 河南项城人, 在读硕士研究生, 主要从事烟草调制生理研究。

E-mail: huangxf9999@163.com

1 材料与方

1.1 材料

试验于 2005 ~ 2006 在攀枝花“攀申”烟叶基地进行。供试烤烟品种红花大金元, 土壤为紫色土壤, 肥力中等, pH 为 6.4, 施纯氮量为 97.5 kg/hm², 施肥 N:P₂O₅:K₂O = 1:2:3。土壤有机质含量为 2.3%, 速效氮为 47.8 mg/kg, 速效磷为 3.9 mg/kg, 速效钾为 121.7 mg/kg。

1.2 处理

当试验田内第 12 片叶位的中部叶大部分已经成熟落黄时, 取该叶位 (第 12 片叶) 不同外形的烟叶 15 片。按不同外形叶片试验分为 5 个处理:

- T1: 含有大块黑褐颜色的烟叶;
- T2: 黄绿相间烟叶;
- T3: 浓绿色烟叶;
- T4: 卷曲烟叶;
- T5: 正常成熟落黄的烟叶 (对照)。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 组织结构的测定

为使样品具有代表性和一致性, 由处理烟叶的叶尖至叶基方向数第 6 ~ 8 条支脉间、主脉右侧, 相同位置上选取叶片, 取样后立即用 FAA 固定保存、石蜡制片法制片, 切片厚度 8 ~ 10 μm, 番红 - 固绿对染, Olympus 显微镜测定。共观察 10 张切片, 每样 2 张切片, 每张切片观察 2 个视野, 并对所得数据进行统计分析。

1.3.2 防御酶活性的测定

烟叶采摘后立即带回实验室, 取各处理有代表性的烟叶切去其叶尖和叶基部各 1/3 区域, 留

叶中部用于防御酶 (PPO, SOD, POD) 和丙二醛 (MDA) 的测定。

多酚氧化酶 (PPO): 采用剩余滴定法^[5]; 超歧化物氧化酶 (SOD): 比色法^[5]; 过氧化物酶 (POD): 愈创木酚法^[6]; 丙二醛 (MDA): 按硫代巴比妥酸的测定方法^[5]。

2 结果与分析

2.1 不同外观类型烟叶解剖结构比较分析

烟叶解剖结构是影响烟叶品质的重要因素, 叶片的厚度、栅栏组织厚、海绵组织厚与烟叶品质有一定的关系。

2.1.1 表皮厚度和表皮细胞宽

由表 1 可见, 不同外形鲜烟叶的上下表皮细胞宽和表皮厚度间存在显著差异, T5 (正常成熟落黄的烟叶) 的表皮厚和表皮细胞宽均相对较小, 其它处理的烟叶 (即畸形的烟叶) 表皮较厚, 表皮细胞较宽。这说明当烟叶不能正常成熟落黄时, 其表皮厚度增加, 表皮细胞宽度增大, 成熟度较低。

2.1.2 组织厚度和栅栏组织密度

表 2 的结果显示, 栅栏组织厚度在各个外形鲜烟叶间的差异显著, T5 (正常成熟落黄的烟叶) 的栅栏组织厚度显著低于其它处理; 海绵组织厚度以 T4 (卷曲烟叶) 最大, T1 (含有黑褐颜色的烟叶) 最小; 栅栏组织密度以 T5 最小。栅栏组织细胞密度反映了叶片组织结构的紧密和疏松程度, 其大小直接影响叶片的干物质积累量, 因此也影响烟叶加工的物理性质。T5 的烟叶叶片栅栏组织细胞密度较小, 叶肉细胞排列疏松, 细胞发育较为正常、完全, 成熟度较好。

表 1 不同外观类型鲜烟叶表皮厚度和表皮细胞宽比较

Tab. 1 The Comparison on the thickness of epidermal and the wideness of epidermal cell in the unflue-cured tobacco leaves of different shape

处理 treatments	上表皮厚 thickness of exter- epidermal	上表皮细胞宽 wideness of exter- epidermal cell	下表皮厚 thickness of inter- epidermal	下表皮细胞宽 wideness of inter- epidermal cell
T1	28.17 d	40.18 c	18.63 b	24.39 a
T2	23.08 b	33.28 b	17.44 ab	26.62 b
T3	27.39 c	42.11 d	23.83 c	39.29 c
T4	27.32 c	43.27 d	16.12 a	27.95 b
T5	18.72 a	30.94 a	16.77 ab	24.18 a

注: 小写字母不同表示处理间差异达到 5% 显著水平。

Note: Different small letters indicate significant difference at 5% level between treatment

表 2 不同外观类型鲜烟叶组织厚度和栅栏组织密度比较

Tab. 2 The Comparison on the thickness of tissue and the density of palisade tissue in the unflue-cured tobacco leaves of different shape μm

处理 treatments	栅栏组织厚 thickness of palisade tissue	海绵组织厚 thickness of sponge tissue	栅栏组织密度 density of palisade tissue
T1	97.28 c	113.88 a	0.06 b
T2	88.66 b	140.28 b	0.06 ab
T3	124.58 d	150.81 c	0.05 ab
T4	141.57 e	194.97 d	0.05 ab
T5	77.74 a	143.04 b	0.04 a

注：小写字母不同表示处理间差异达到 5% 显著水平。

Note: Different small letters indicate significant difference at 5% level between treatment

2.2 不同外形鲜烟叶防御性酶和 MDA 活性比较

多酚氧化酶 (PPO) 是呼吸链末端氧化酶之一, 参与多酚类物质的氧化, 在烟株防御保护体系中起重要作用, 调制时又是美拉德反应 (棕色化反应) 的主要参与者^[7]; 在生长过程中, PPO 活性均表现出先增后减的单峰曲线规律。超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 是参与植物体内呼吸代谢和生物氧化等重要生命活动的线粒体外的末端氧化酶, 是生物自由基的清除剂, 清除活性氧, 也参与酚类物质的氧化, 在防御植物活性氧伤害方面有重要作用。所以有人认为 PPO, POD, SOD 等可构成一个体系, 表现出植物对逆境或成熟及衰老进程的反应^[8,9]。MDA 是细胞膜脂过氧化作用的最终产物, 其含量的高低可以反映出膜脂过氧化水平。

2.2.1 不同外形烤烟 PPO, POD 和 SOD 活性差异

由图 1, 2, 3 中可以看出 T1 (黑褐烟叶) 的 PPO, POD 和 SOD 活性最小, T2 (黄绿相间烟叶) 的 POD 和 SOD 活性最大, T5 (卷曲烟叶) 的 PPO 活性最大。T5 (正常成熟落黄的烟叶) 3 种酶活性在各处理中处于中间水平。烟叶在成熟衰老过程中, 防御酶活性呈现出“先上升后下降的趋势”,

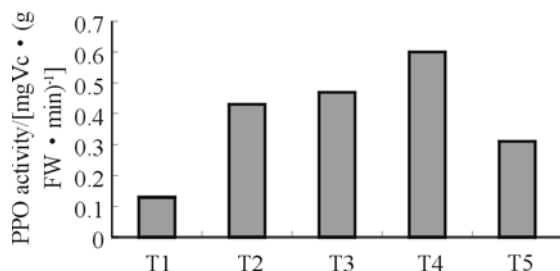


图 1 不同外形烤烟 PPO 活性差异

Fig. 1 Difference of PPO activity in tobacco leaves of different shapes

黑褐烟叶 3 种酶活性较小, 说明叶片已经衰老, 细胞趋于死亡。黄绿相间的烟叶 POD 和 SOD 活性较大, 可能是烟叶叶片发生膜质过氧化的结果。

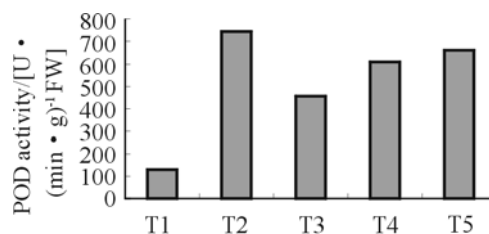


图 2 不同外形烤烟 POD 活性差异

Fig. 2 Difference of POD activity tobacco leaves of different shapes

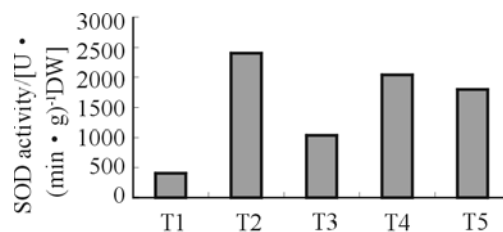


图 3 不同外形烤烟 SOD 活性差异

Fig. 3 Difference of SOD activity tobacco leaves of different shapes

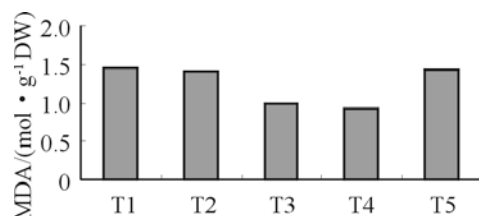


图 4 不同外形烤烟 MDA 含量差异

Fig. 4 Difference of the contents of MDA in tobacco leaves of different shapes

2.2.2 不同外形烤烟 MDA 含量差异

MDA 是细胞膜脂过氧化作用的最终产物。由

图4可以看出,T3(浓绿烟叶)和T4(卷曲烟叶)处理的MDA含量较少,这说明T3和T4处理的烟叶膜质过氧化水平比较低,叶片还处在生长发育期。而T1(黑褐烟叶),T2(黄绿相间烟叶)和T5(正常成熟落黄烟叶)的MDA含量相对较高,说明这3个处理的烟叶正在处于膜质过氧化状态或者已经发生过膜质过氧化。

3 讨论

烟叶的栅栏组织厚度和栅栏组织密度等结构特性指标因叶片外形不同而有差异。

(1)在不同外形鲜烟叶间,黑褐烟叶叶片大小较小,叶片较薄,栅栏组织较厚,海绵组织最薄,栅栏组织密度最大,所以其叶肉细胞排列紧密,组织结构致密;防御酶PPO,POD和SOD活性最低,MDA活性最大,这说明在大田生长期间,叶片已经开始衰老,叶肉细胞分裂和扩展停止或缓慢,逐渐趋于死亡。

(2)黄绿相间烟叶叶片大小和厚度适中,叶质重、栅栏和海绵组织厚度稍低,开片度和栅栏组织密度略高,SOD和POD活性最大,但是PPO的活性较低,MDA的活性较高;由于这种烟叶的叶片颜色分布不均,颜色黄绿交错,可能与叶片发生膜脂过氧化作用有关。

(3)浓绿烟叶的开片度状况较差,开片度最低,可能与烟叶发育不完全有关,所以生产中应加以重视。

(4)卷曲烟叶叶片的厚度、上表皮细胞宽、栅栏和海绵组织厚度均最大,下表皮厚和栅栏组

织密度最小,海绵组织增厚是叶片厚度大的主要原因;PPO的活性最大,SOD和POD的活性较大,MDA的活性最小,说明烟叶正是生长发育的旺盛时期,且组织结构非常疏松,细胞间隙较大,叶肉细胞排列疏松。

[参考文献]

- [1] 王宝华,吴帼英,黄静勋,等. 烟叶植物学特性观察Ⅱ烤烟烟叶的栅栏组织和海绵组织[J]. 中国烟草,1984,(2):10-14.
- [2] 聂荣邦,李海峰,胡子述,等. 烤烟不同成熟度鲜烟叶组织结构研究[J]. 烟草科技,1991,(3):37-39.
- [3] 冉邦定,刘敬业,李天富,等. 烤烟K326成熟期五种酶动态的研究[J]. 烟草科技,1993,(4):13-19.
- [4] 柴家荣,尚志强,戴福斌,等. 氮磷钾营养与白肋烟叶内有关生化物质的关系[J]. 烟草科技,2004,(10):31-35.
- [5] 张志良. 植物生理学实验指导(第2版)[M]. 北京:北京高等教育出版社,1990.
- [6] 华东师范大学生物系编. 植物生理学实验指导[M]. 北京:人民教育出版社,1980.
- [7] 宫长荣. 烟草调制学[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [8] 闫龙飞,李明启. 基础生物化学[M]. 北京:中国农业出版社,1985.
- [9] 谭兴杰,李月标. 荔枝果皮多酚氧化酶的部分纯化及性质[J]. 植物生理学报,1984,(10):339-345.