

采后烟叶碳代谢的动态变化分析

蒋博文¹, 王涛², 宋朝鹏¹, 王松峰³, 高华锋², 解燕², 毛建书², 贺帆^{1*}

(1.河南农业大学烟草学院, 郑州 450002; 2.云南省烟草公司曲靖市公司, 云南 曲靖 655000; 3.中国农业科学院烟草研究所, 农业部烟草生物学与加工重点实验室, 青岛 266101)

摘要:为探究采后离体烟叶内碳代谢的变化规律,以烤烟品种豫烟12号和秦烟96为供试材料,测定采后不同时段烟叶淀粉、总糖和还原糖含量变化,并对淀粉和糖代谢相关基因进行实时荧光定量PCR分析。结果表明,秦烟96采后烟叶淀粉含量显著高于豫烟12号,烟叶采后0~30 h,淀粉含量逐渐下降,总糖和还原糖含量逐渐升高,且糖含量在采后12 h后增加速率变快。秦烟96鲜烟叶中淀粉和糖代谢相关基因的表达量高于豫烟12号,而淀粉分解相关基因 *Nta-amylase* 和 *Ntβ-amylase* 表达量低于豫烟12号。烟叶采后30 h内,淀粉合成相关基因 *NtAGPS1*、*NtAGPS3* 和直链淀粉合成关键基因 *NtGBSSI* 表达量逐渐下调;支链淀粉合成的相关酶基因表达量变化呈无序增降模式;淀粉分解代谢和糖代谢相关酶基因的表达量或呈先升后降趋势,或呈逐渐上升趋势。*NtAGPS1* 和 *NtGBSSI* 表达量变化与采后烟叶中淀粉和糖含量变化相关性显著。同一生态条件下,豫烟12号和秦烟96采后烟叶淀粉和糖代谢规律存在差异,其中 *NtAGPS1* 和 *NtGBSSI* 可能是采后离体烟叶碳代谢的关键调控基因。

关键词: 烤烟; 采后烟叶; 淀粉代谢; 糖代谢; 基因表达

中图分类号: S572.01

文章编号: 1007-5119(2018)01-0032-10

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2018.01.005

Dynamic Analysis of Carbon Metabolism in Tobacco Leaves after Harvest

JIANG Bowen¹, WANG Tao², SONG Chaopeng¹, WANG Songfeng³, GAO Huafeng²,
XIE Yan², MAO Jianshu², HE Fan^{1*}

(1. College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Qujing Branch of Yunnan Province Tobacco Company, Qujing, Yunnan 655000, China; 3. Tobacco Research Institute of CAAS, Key Laboratory of Tobacco Biology and Processing, Ministry of Agriculture, Qingdao 266101, China)

Abstract: To explore the molecular mechanism of carbon metabolism in tobacco leaves after harvest, the flue-cured tobacco varieties “Yuyan 12” and “Qinyan 96” were taken as the sample materials to determine the changes of starch, total sugar, and reducing sugar contents, and the expression levels of starch and sucrose metabolism related genes in tobacco leaves after harvest were analyzed by real-time fluorescence quantitative PCR. The results indicated that the starch content of “Qinyan 96” was significantly higher than that of “Yuyan 12”. Starch content decreased gradually after harvested for 0-30 h, while total sugar and reducing sugar gradually increased, and sugar content increased rapidly after 12 h. The expression of *NtAGPS3*, *NtGBSSI*, *NtSS1*, *NtSS2*, *NtSBE1*, *NtSBE2*, *NtISO2*, *NtISO3*, *NtSP*, *NtSPSA*, *NtSPSB*, *NtSPSC*, *NtSPP1*, *NtSPP2*, *NtSuS* and *NtVIN1* in fresh tobacco leaves of “Qinyan 96” was significantly higher than that of “Yuyan 12”, while the expression of *Nta-amylase* and *Ntβ-amylase* was significantly lower than that of “Yuyan 12”. The expression levels of *NtAGPS1*, *NtAGPS3* and *NtGBSSI* decreased rapidly after harvested for 0-30 h; the expression levels of amylopectin synthesis related genes showed disordered increasing and decreasing; the expression of *NtSR1*, *Nta-amylase*, *Ntβ-amylase*, *NtSP*, *NtSPSA*, *NtSPSB*, *NtSPSC*, *NtSPP1*, *NtSPP2*, *NtSuS* and *NtVIN1* showed the trend of ascending first then descending, or increasing gradually. The expression levels of *NtAGPS1* and *NtGBSSI* were significantly correlated to the changes of starch and sugar contents. These results suggested that there are some differences in starch and sugar metabolism between “Yuyan 12” and “Qinyan 96”, and *NtAGPS1* and *NtGBSSI* might be the key genes regulating the carbon metabolism in tobacco leaves after harvest.

Keywords: flue-cured tobacco; tobacco leaves after harvest; starch metabolism; sucrose metabolism; gene expression

基金项目: 中国烟草总公司云南省公司资助项目“烤烟散叶密集烘烤配套技术研究与应用”(2017YN19)

作者简介: 蒋博文(1991-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事烟叶采后生理研究。E-mail: 15136467971@163.com

*通信作者, E-mail: hefanyan@163.com

收稿日期: 2017-08-03

修回日期: 2017-12-13

碳水化合物及糖类代谢是植物最基本的初生代谢,直接影响着植物的基本生命活动^[1-2]。淀粉是烟叶中碳水化合物贮藏的主要形式,成熟鲜烟叶中的淀粉含量可达 40%^[3]。烤后烟叶中残留的淀粉严重影响烟叶质量,而由淀粉降解产生的还原糖既可以增加烟叶香吃味,又可以参与调节烟气酸碱平衡^[4],因此采后烟叶淀粉和糖代谢对烟叶质量有重要影响。成熟烟叶采收至烘烤定色前,烟叶处于饥饿代谢状态,其内部进行着复杂的生理生化变化,研究采后烟叶内碳代谢的变化规律对提高烟叶的烘烤品质具有重要意义。

张松涛等^[5]研究发现,云南烟叶成熟过程中焦磷酸化酶基因 *NtAGPase* 和颗粒结合型淀粉合成酶基因 *NtGBSSI* 表达量明显强于河南烟叶,推测淀粉组分之间的差异可能是造成云南烤后烟叶淀粉含量显著低于河南的原因。张嘉炜等^[6]、贾宏昉等^[7]研究发现,土壤中添加腐熟秸秆、生物碳等,淀粉代谢相关基因 *NtAGPase*、*NtGBSSI* 和蔗糖代谢相关基因 *NtSuS* 等表达增强,从而促进成熟期烟叶碳代谢的进行,有利于提高烟叶的品质。杨胜男等^[8]研究发现,复合有机肥可促进叶片细胞中淀粉的积累,并改变淀粉组分,其中 *NtGBSSI* 的表达随复合有机肥施用量的增加而减弱,可溶性淀粉合成酶基因 *NtSS* 的表达随复合有机肥施用量增加而增强。王红丽等^[9]研究发现,糖代谢相关基因 *NtINV*、*NtSuS*、*NtSPS* 表达量随生育期的推进而逐渐增强,淀粉代谢相关基因 *NtGBSSI* 表达量不受烟叶成熟时期的影响。

烟叶离体至烘烤定色前仍然进行着剧烈的生理生化反应^[10],但目前关于碳代谢的研究集中在烟草大田成熟期,且涉及的碳代谢基因较片面,对于采后离体烟叶内淀粉和糖代谢的变化规律研究鲜有报道。本研究以豫烟 12 号和秦烟 96 为材料,在生态环境、土壤肥力、栽培措施等一致前提下,测定采后不同时段烟叶中淀粉、总糖和还原糖含量变化,利用实时荧光定量 PCR 技术检测采后烟叶淀粉和糖代谢相关基因的表达规律,为分子调控烟叶碳代谢,合理调控烘烤工艺提供理论依据,并为进一

步研究烘烤过程中烟叶碳代谢规律奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料取自河南省洛阳市洛宁县烟草科技示范基地,供试品种为豫烟 12 号和秦烟 96。试验田地处东经 111°38',北纬 34°26',年平均气温 13.7 °C,日照时数 2217.6 h,无霜期 216 d,常年降水量 600~800 mm。植烟土壤为黄棕壤,肥力中等, pH 7.17,有机质 12.10 g/kg,碱解氮 71.74 mg/kg,速效磷 9.32 mg/kg,速效钾 170.59 mg/kg,试验田地势平坦,灌排方便,在该烟区代表性强。按照当地施氮量施肥,磷、钾肥施用量保持一致,其余田间管理措施同当地优质烟叶生产技术规范。

1.2 试验设计

2016 年 8 月 15 日采摘成熟度一致的无病虫害的适熟中部叶(10~12 叶位),置于温度为 30 °C,相对湿度为 90%恒温恒湿的暗箱(暗箱提前用 0.1%的 DEPC 水处理)中。适熟烟叶成熟特征统一为:移栽后 80 d,叶面落黄八成左右,主脉全白发亮,支脉变白,叶尖、叶缘下卷,叶面起皱^[11]。于采后 0、6、12、18、24 和 30 h 分别进行取样,每次随机选取 10 片烟叶进行淀粉、糖含量和基因表达量的测定,重复 3 次取样。

1.3 糖和淀粉含量测定

将各个时段所取的烟叶叶尖和叶基部各剪去 10 cm,去主支脉,先用烘箱在 105 °C 下杀青 15 min,再降至 65 °C 烘干,研磨,并经 60 目过滤筛过滤保存。总糖、还原糖采用 AAIII 型连续流动化学分析仪(德国 BRAN+LUEBBE 公司生产)测定,淀粉采用高氯酸超声萃取-连续流动法测定^[12]。试验重复 3 次。

1.4 基因表达量分析

各个时段分别取 5 片烟叶,去主支脉后混合以减少试验误差,所取叶片用纱布和锡箔纸包裹,迅速置于液氮中冷冻,于-80 °C 超低温冰箱保存。采用 Trizol 法提取烟叶总 RNA,通过随机引物法反转

录合成 cDNA^[13]。根据 GenBank 发布的碳代谢基因的序列设计 PCR 引物 (表 1), 进行实时定量 PCR 检测。以烟草核糖体蛋白编码基因 *NiL25* 作为内参基因, 引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成。按照

Invitrogen 公司的 RealMasterMix (SYBR Green) 试剂盒说明书进行实时定量 RT-PCR, 每个样品 3 次重复。实时定量的实验结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法^[14]进行分析。植物细胞内淀粉和糖的代谢是一个有机循环过

表 1 糖和淀粉代谢相关基因的实时定量 PCR 引物序列
Table 1 Primers for qPCR of sugar and starch metabolism related genes in tobacco

代谢途径 Metabolic pathway	基因名称 Gene name	序列号 Serial number	引物序列(5'-3') Primer sequence	
内参基因 Reference gene	<i>NiL25</i>	L18908	F : GCTTCTTCGTCCCATCA	R : CCCCAGTACCCTCGTA
淀粉代谢基因 Starch metabolism related genes	<i>NiAGPL3</i>	XM016630651	F : CGTGCTAAGCCTGCTGTTC	R : TGGTGTGTTGAGTTGCTGCTAAGA
	<i>NiAGPS1</i>	DQ399915	F : CGTGATAAGTCCCTTGTTG	R : TCACATTGTCCCTATACGG
	<i>NiAGPS2</i>	NM001325659	F : TCCCTCAACCGTCACCTCTC	R : TTATGCTCCTCAAACAACCACAA
	<i>NiAGPS3</i>	AY186620	F : AGCAAAGACGTGATGTTAAACC	R : TCTTCACATTGTCCCTATACG
	<i>NiGBSS1</i>	DQ069271	F : GGTAGGAAAATCAACTGGATG	R : TATCCATGCCATTCACAATCC
	<i>NiSS1</i>	DQ021463	F : CGGGACAATATCAATTCGTC	R : GGTGGGAAACTGGAACACTAAA
	<i>NiSS2</i>	DQ021466	F : GATGAAAAGGGCTACCCACTG	R : TGCCTGTCTTTGACTGAACTTTG
	<i>NiSBE1</i>	AB028067	F : TATTCAGCGAGGCTACAGATG	R : CATGAAATTGAGGTACCCCTC
	<i>NiSBE2</i>	DQ021459	F : CACCTCCCCTGCTTTCACCTCC	R : GTTCTCAGCTTAAATCTGGCTAG
	<i>NiISO1</i>	DQ021471	F : TTGGATCCTATGCCAAGGTCA	R : TAGGTCTCCTCCAGTCAAAGTATG
	<i>NiISO2</i>	DQ021461	F : AGTTGGTCTCAGTTCAGGGCAT	R : GGCAAAGAAACAATCTAAAGCAGC
	<i>NiISO3</i>	DQ021462	F : AACGAGATTACCTGGCTTGAGGA	R : TGTTTTGCTCCAGAAGAATAGCAG
	<i>NiSRI</i>	DQ021469	F : AGAAATATATGTCGAGGTGGTCAGGG	R : TTGGGTAACCTAACACTTGAGGAGAGT
	<i>NiSP</i>	DQ021468	F : AATCAIGATGTGCAAGCGAAGA	R : TGIAAICTGGCACAAAATATTACCTTCAA
	<i>Niα-amylase</i>	DQ021455	F : ATATTGCAGGCCTTCAACTGGG	R : TGGAAGGTAACCTTCAGGAGACAA
	<i>Niβ-amylase</i>	DQ021457	F : TGAGCTATTGAAAATGGCGAAGA	R : AAGAGGGATCGTGCAAGAAATCA
糖代谢基因 Sugar metabolism related genes	<i>NiSPSA</i>	AF194022	F : GGAATTACAGCCCATACGAG	R : AAGTTCTGGGTGAGCAAA
	<i>NiSPSB</i>	DQ213015	F : AGGGAGTCTTCATAATCCAG	R : GGACCACCATCTTAGTAGC
	<i>NiSPSC</i>	DQ213014	F : GGGACTTTGGATTAGATGAAG	R : GCATGTGTGTAATAACAC
	<i>NiSPP1</i>	AAW32903	F : TTGTTCCCGCTATGAAG	R : CAGATGGTCTACACACTGC
	<i>NiSPP2</i>	AAW32903	F : GTGGTGA CTGGGAATGATG	R : CATTAGCCATGTCTGATGTAC
	<i>NiSuS</i>	AB055497	F : CCATTCTCAGCCCAGTTTA	R : CTCTGCCTGTCTTCCAAGT
	<i>NiVIN1</i>	AF376773	F : TAAAGGAATCACAGCGTCC	R : TGCATAAAGATCAGCCCAACTA

注: F 表示上游引物, R 表示下游引物。

Note: F represents the upstream primer, R represents the downstream primer.

程, 葡萄糖、果糖、蔗糖和淀粉之间通过各种酶相互转化, 论文中涉及的淀粉和糖代谢基因所处的碳代谢位置见图 1^[15-28]。

1.5 数据统计分析

用 Microsoft Excel 2010 进行数据处理和绘图。用 SPSS 20 统计软件进行数据分析, 用 Pearson 相关系数进行相关分析。

2 结果

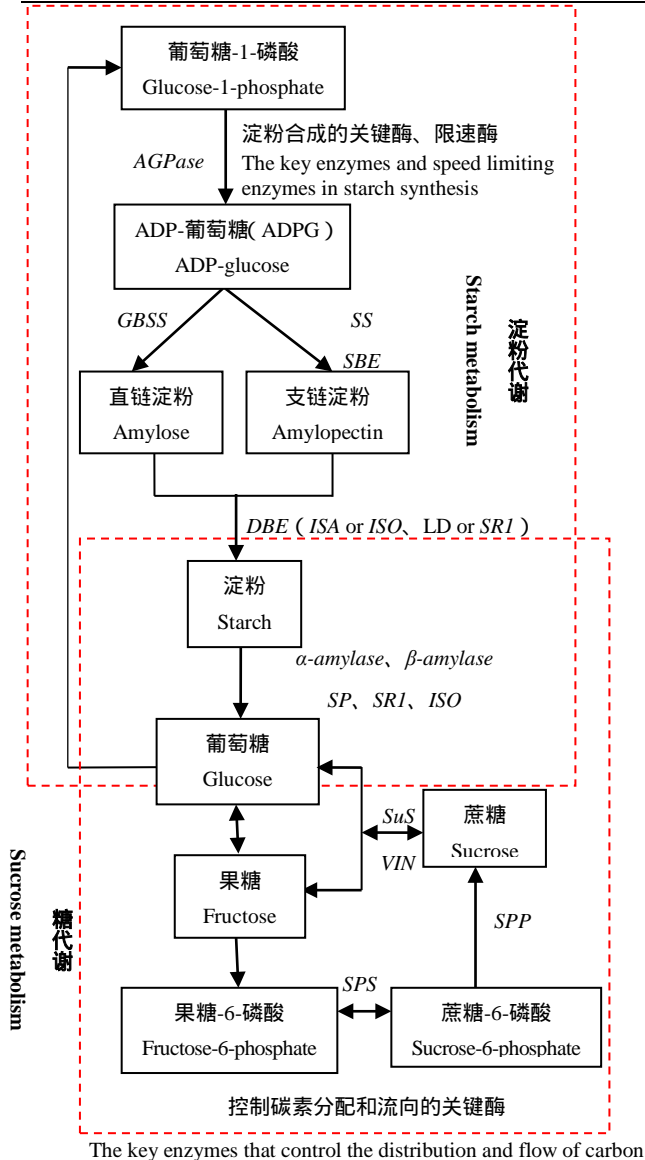
2.1 采后烟叶淀粉和糖含量变化

如图 2 所示, 秦烟 96 鲜烟叶 (采后 0 h) 淀粉和总糖含量均显著高于豫烟 12 号, 其中秦烟 96 鲜

烟叶淀粉含量为 30.56%, 极显著高于豫烟 12 号 (25.49%), 总糖含量为 4.83%, 显著高于豫烟 12 号 (3.86%); 随着采收时间的推移, 烟叶内淀粉含量呈下降趋势, 而总糖和还原糖含量呈上升趋势, 其中糖含量在采后 12 h 后增加速率变快; 采后 30 h, 豫烟 12 号淀粉含量较 0 h 降解 19.22%, 而秦烟 96 降解 23.89%, 秦烟 96 淀粉降解率显著大于豫烟 12 号, 但总糖和还原糖的增长率 (3.38%、4.12%) 却小于豫烟 12 号 (4.30%、5.04%)。

2.2 采后烟叶淀粉代谢相关基因的表达量变化

由淀粉合成起始步骤的关键酶 *AGPase* 的基因表达分析发现 (表 2), 豫烟 12 号和秦烟 96 成熟和



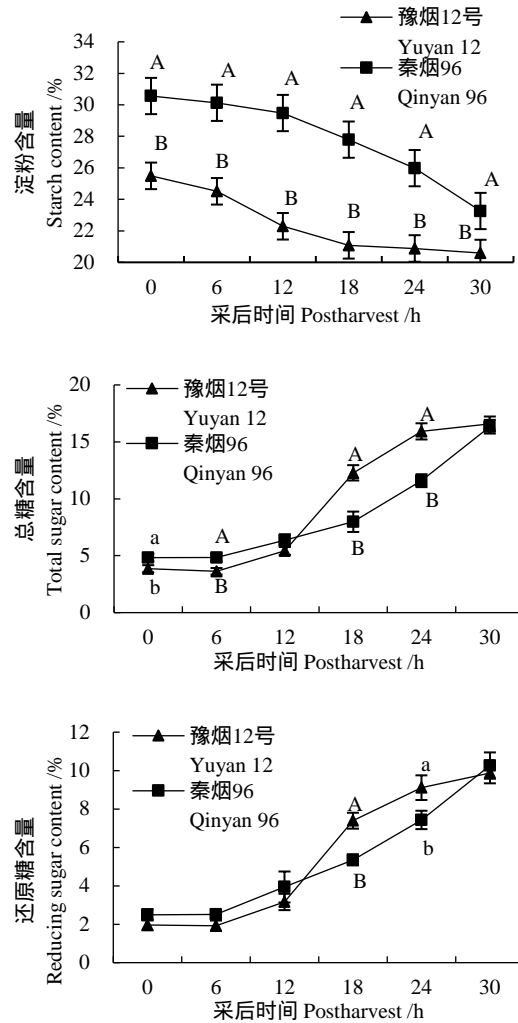
The key enzymes that control the distribution and flow of carbon

注：实时定量实验中使用的基因已标出。

Note: Genes used in qPCR analysis were marked.

图 1 植物碳代谢途径

Fig. 1 Carbon metabolism pathways in plants



注：不同大、小写字母分别表示同一时间两品种间差异达显著 ($p < 0.05$) 和极显著 ($p < 0.01$) 水平。

Note: The different uppercase and lowercase letters respectively indicate that the difference reached significant ($p < 0.05$) and extremely significant ($p < 0.01$) between Yuyan 12 and Qinyan 96 at the same harvesting time.

图 2 采后烟叶淀粉和糖含量的变化

Fig. 2 Changes of starch and sugar contents in tobacco leaves after harvest

表 2 采后烟叶淀粉代谢相关酶基因的相对表达量变化

Table 2 Changes of relative expression levels of starch metabolism related genes in tobacco leaves after harvest

基因 Gene	豫烟 12 号 Yuyan 12						秦烟 96 Qinyan 96					
	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h	30 h	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h	30 h
<i>NtAGPL3</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>NtAGPS1</i>	11.00±0.10	8.37±0.40	5.14±0.37	3.55±0.10	2.44±0.11	1.00±0.15	12.37±0.75	8.91±0.81	7.11±0.49	2.78±0.22	2.15±0.15	1.75±0.14
<i>NtAGPS2</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>NtAGPS3</i>	10.04±0.59	4.28±0.14	2.14±0.49	1.40±0.11	1.39±0.19	1.76±0.03	17.93±0.66	2.75±0.19	2.74±0.28	2.14±0.16	1.52±0.27	1.00±0.17
<i>NtGBSS1</i>	23.18±0.11	12.04±0.48	9.12±1.05	10.48±1.17	5.24±0.35	1.00±0.28	31.63±1.17	9.15±0.24	9.80±0.11	9.51±0.46	4.08±0.46	1.32±0.10
<i>NtSS1</i>	11.21±0.93	1.00±0.24	1.86±0.37	3.35±0.27	2.06±0.27	2.37±0.35	16.43±1.57	2.11±0.06	1.88±0.33	3.21±0.33	3.99±0.25	5.01±0.22
<i>NtSS2</i>	10.13±0.69	8.88±0.53	9.04±0.66	8.38±0.44	3.94±0.15	1.00±0.05	16.2±1.31	1.84±0.58	4.05±0.87	3.69±0.50	4.32±0.58	4.62±0.52
<i>NtSBE1</i>	2.59±0.52	1.00±0.15	1.70±0.75	11.78±1.31	7.37±1.06	1.08±0.20	34.67±3.08	5.29±1.99	14.92±3.98	27.35±4.71	26.94±2.36	38.84±3.31
<i>NtSBE2</i>	6.79±0.23	6.12±0.53	6.73±0.46	5.97±0.55	3.38±0.45	1.00±0.18	30.28±1.41	2.30±0.03	4.20±0.33	5.20±0.25	6.95±0.38	7.61±0.44
<i>NtISO1</i>	10.09±0.04	7.57±0.22	8.89±0.59	10.03±0.73	4.62±0.52	1.23±0.10	1.00±0.24	2.46±0.44	7.75±0.34	4.87±0.52	5.35±0.60	4.25±0.52
<i>NtISO2</i>	4.92±0.50	1.00±0.05	1.45±0.24	2.28±0.24	2.77±0.72	1.43±0.29	8.91±0.45	1.61±0.22	1.49±0.48	1.03±0.19	2.76±0.39	3.73±0.21
<i>NtISO3</i>	1.54±0.15	1.00±0.32	1.13±0.28	2.64±0.53	1.75±0.32	1.84±0.51	11.36±0.97	3.39±0.28	1.58±0.27	1.58±0.05	4.03±0.37	7.62±0.18
<i>NtSRI</i>	3.93±0.32	1.12±0.07	1.34±0.09	1.00±0.31	2.18±0.23	2.12±0.35	4.69±0.87	2.27±0.30	1.00±0.21	1.10±0.10	4.85±0.71	11.90±1.14
<i>Nta-amylase</i>	6.35±1.98	7.66±2.39	23.43±1.83	31.51±2.23	19.57±2.30	14.37±0.70	1.00±0.29	16.33±1.51	10.63±1.66	9.97±1.18	17.35±0.88	19.79±0.90
<i>Ntβ-amylase</i>	10.85±0.52	6.53±0.53	33.38±0.87	21.49±0.53	12.08±0.45	8.19±0.03	1.00±0.48	10.47±0.95	38.74±0.82	38.51±1.71	39.36±1.90	58.45±4.42
<i>NtSP</i>	3.61±0.31	1.37±0.31	1.58±0.05	1.99±0.35	1.13±0.26	1.00±0.24	13.97±0.77	1.34±0.15	1.39±0.23	1.39±0.29	3.61±0.79	2.97±0.38

采后烟叶中 *NtAGPL3* 和 *NtAGPS2* 无表达; *NtAGPS1* 和 *NtAGPS3* 在秦烟 96 成熟烟叶 (0 h) 中的表达量均高于豫烟 12 号; *NtAGPS1* 表达量在采收后的 30 h 内逐渐下降, 而 *NtAGPS3* 表达量在采后 6 h 迅速下调至较低水平。 *NtAGPS1* 基因的变化趋势与总淀粉含量变化相似, 可能是淀粉合成起始步骤的关键基因。

秦烟 96 鲜烟叶 (0 h) 中直链淀粉合成的关键酶基因 *NtGBSS1* 表达量高于豫烟 12 号。在采后 30 h 内, *NtGBSS1* 表达量逐渐下降, 其整体变化趋势与总淀粉变化相似, 可能是淀粉合成的关键基因。

可溶性淀粉合成酶基因在两个品种中的表达量变化趋势不同: *NtSS1* 的表达量在烟叶采收后 6 h 降至低谷, 随后略有增加, 采后 30 h 时, 秦烟 96 的表达量高于豫烟 12 号; *NtSS2* 在秦烟 96 中的表达量变化与 *NtSS1* 相似, 而 *NtSS2* 在豫烟 12 号中呈逐渐下降趋势。

淀粉分支酶基因表达量变化趋势在两个品种中不同。秦烟 96 成熟烟叶 (0 h) 中 *NtSBE1* 和 *NtSBE2* 的表达量均高于豫烟 12 号; 秦烟 96 中的 *NtSBE1* 的表达量在烟叶采收后 6 h 降至低谷, 随后逐渐增加; 豫烟 12 号中的 *NtSBE1* 的表达量在烟叶成熟至采收后 12 h 均维持在较低水平, 随后逐渐增加并在采后 18 h 达到高峰, 而后降低至采后 6 h 的表达量水平; *NtSBE2* 在秦烟 96 中的表达趋势与 *NtSS1* 和 *NtSS2* 相似, 而在豫烟 12 号中呈逐渐下降趋势。可见, 不同淀粉分支酶在不同品种中的表达特性不同。

淀粉去分支酶基因表达量变化研究发现, 烟叶成熟时, *NtISO1* 在豫烟 12 号中的表达量高于秦烟 96; 随后其在两个品种中均呈先增再降的变化趋势, 在采收后 30 h, 秦烟 96 中 *NtISO1* 表达量高于豫烟

12 号。 *NtISO2*、 *NtISO3* 和 *NtSRI* 基因在秦烟 96 烟叶成熟期的表达量高于豫烟 12 号, 烟叶采收后, 秦烟 96 中 *NtISO2*、 *NtISO3* 和 *NtSRI* 基因表达量呈“U”型变化, 而豫烟 12 号中这些基因的表达量整体无剧烈变化。

淀粉水解酶基因 *Nta-amylase* 和 *Ntβ-amylase* 的表达模式显示, 烟叶成熟时, 豫烟 12 号的淀粉水解酶基因表达量高于秦烟 96; 烟叶采收后两个品种中 *Nta-amylase* 和 *Ntβ-amylase* 表达量整体呈上调趋势; 采后 30 h, 秦烟 96 中淀粉水解酶基因表达量高于豫烟 12。

淀粉磷酸化酶基因 *NtSP* 表达量变化研究发现, 烟叶成熟时, 秦烟 96 的 *NtSP* 表达量远高于豫烟 12 号; 烟叶采后 6 h, 两品种中 *NtSP* 表达量均迅速降低, 烟叶采收 30 h 时, 秦烟 96 的 *NtSP* 表达量高于豫烟 12 号。

2.3 采后烟叶糖代谢相关酶基因的表达量变化

如表 3 所示, 检测采后烟叶蔗糖磷酸合成酶基因 (*NtSPSA*、 *NtSPSB*、 *NtSPSC*) 的表达量发现, 这些基因在两个品种中的表达量差异较大, 烟叶成熟及采后 30 h, 秦烟 96 中 *NtSPS* 的表达量远高于豫烟 12 号; 豫烟 12 号 *NtSPSA*、 *NtSPSB* 和 *NtSPSC* 的表达量均呈先升高后降低趋势; 秦烟 96 三个基因表达量在采后 6 h 迅速下调至较低水平, 但随后呈上调趋势, 30 h 时又迅速降低, 其中 *NtSPSA* 表达量在采后 30 h 时仍处于较高水平。

蔗糖磷酸合成酶和蔗糖磷酸酶常以复合体的形式存在于植物体内。秦烟 96 成熟烟叶和采收后烟叶中 *NtSPP1* 和 *NtSPP2* 表达量整体高于豫烟 12 号; 秦烟 96 成熟烟叶 (0 h) 中 *NtSPP1* 和 *NtSPP2*

表 3 采后烟叶糖代谢相关酶基因的相对表达量变化

Table 3 Changes of relative expression levels of sucrose metabolism related genes in tobacco leaves after harvest

基因 Gene	豫烟 12 号 Yuyan 12						秦烟 96 Qinyan 96					
	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h	30 h	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h	30 h
<i>NtSPSA</i>	1.80±0.19	1.57±0.18	6.66±0.29	3.94±0.12	1.41±0.24	1.00±0.08	25.60±2.73	2.35±0.34	8.66±0.97	5.41±0.74	7.50±0.70	13.01±1.40
<i>NtSPSB</i>	3.29±0.46	8.26±2.75	24.42±0.71	16.17±2.05	15.45±0.01	1.00±0.16	45.68±3.87	1.99±0.12	17.17±0.32	19.95±1.48	22.78±1.22	10.24±0.88
<i>NtSPSC</i>	8.71±0.66	2.11±0.11	3.84±0.54	5.61±0.57	21.33±1.12	1.00±0.14	18.93±1.23	7.11±0.37	9.35±0.56	24.43±1.16	23.41±0.59	3.69±0.74
<i>NtSPP1</i>	1.16±0.21	1.12±0.28	1.31±0.25	1.88±0.40	1.80±0.04	1.00±0.06	8.02±0.93	1.74±0.37	1.76±0.19	2.32±0.25	2.73±0.26	3.85±0.34
<i>NtSPP2</i>	1.00±0.34	4.22±0.62	5.40±0.73	5.29±0.81	10.88±0.93	6.87±0.26	21.71±2.43	3.22±0.82	9.20±0.63	6.26±0.52	13.21±1.23	17.82±0.74
<i>NtSuS</i>	3.28±0.78	2.57±0.08	4.77±0.25	7.41±0.82	6.96±0.27	2.56±0.65	5.75±0.60	1.00±0.03	1.48±0.15	3.44±0.35	5.13±0.54	5.51±0.57
<i>NtVIN1</i>	1.25±0.19	2.20±0.26	3.95±0.40	1.75±0.18	1.88±0.13	1.00±0.19	9.95±0.53	2.73±0.12	4.35±0.72	4.85±0.33	5.95±0.10	9.40±0.78

表达量较高，采后 6 h 表达量迅速下降，随后呈上调趋势。

烟叶成熟时及采后 30 h，秦烟 96 中蔗糖合成酶基因 *NtSuS* 和糖酵解关键基因 *NtVIN1* 的表达量远高于豫烟 12 号；豫烟 12 号 *NtSuS* 和 *NtVIN1* 表达量呈先上升后下调趋势；秦烟 96 中 *NtSuS* 和 *NtVIN1* 表达量在采后 6 h 迅速下降至较低水平，随后呈逐渐上调趋势。

2.4 采后烟叶淀粉、糖含量变化与酶基因表达量变化的相关性

由表 4 看出，淀粉合成代谢关键酶基因 *NtAGPS1* 表达量变化与两品种烟叶中淀粉和糖含

量呈显著相关性，且与豫烟 12 号淀粉含量变化相关性达极显著水平 ($r=0.987, p < 0.01$)；*NtGBSS1* 表达量变化与豫烟 12 号采后烟叶淀粉含量变化呈显著正相关 ($r=0.876, p < 0.05$)，与其余碳水化合物变化相关性较强 ($r=-0.776, -0.785, 0.709, -0.671, -0.696$)；*NtAGPS3*、*NtSS2*、*NtSBE2*、*NtSR1* 和 *Nt β -amylase* 虽然与豫烟 12 号和秦烟 96 某一生理指标相关性显著，但与其碳水化合物相关性较弱。总体来说，采后烟叶中碳水化合物变化与淀粉代谢相关酶基因表达量变化相关性较强，与糖代谢相关酶基因表达量变化相关性较弱，即采后烟叶碳代谢由淀粉代谢相关酶基因起关键调控作用。

表 4 采后烟叶淀粉、糖含量和代谢相关酶基因表达量的相关性
Table 4 Correlation between starch, sugar contents and metabolic related gene expression

基因 Gene		豫烟 12 号 Yuyan 12			秦烟 96 Qinyan 96		
		淀粉 Starch	总糖 Total sugar	还原糖 Reducing sugar	淀粉 Starch	总糖 Total sugar	还原糖 Reducing sugar
淀粉代谢基因 Starch metabolism related genes	<i>NtAGPS1</i>	0.987**	-0.903*	-0.915*	0.864*	-0.816*	-0.863*
	<i>NtAGPS3</i>	0.892*	-0.663	-0.681	0.557	-0.506	-0.545
	<i>NtGBSS1</i>	0.876*	-0.776	-0.785	0.709	-0.671	-0.696
	<i>NtSS1</i>	0.591	-0.349	-0.362	0.273	-0.219	-0.263
	<i>NtSS2</i>	0.731	-0.878*	-0.872*	0.336	-0.278	-0.314
	<i>NtSBE1</i>	-0.456	0.433	0.439	-0.580	0.606	0.599
	<i>NtSBE2</i>	0.673	-0.853*	-0.847*	0.307	-0.251	-0.290
	<i>NtISO1</i>	0.568	-0.721	-0.712	-0.280	0.264	0.327
	<i>NtISO2</i>	0.427	-0.159	-0.182	0.183	-0.115	-0.172
	<i>NtISO3</i>	-0.573	0.640	0.656	-0.037	0.106	0.035
	<i>NtSR1</i>	0.445	-0.114	-0.142	-0.775	0.821*	0.765
	<i>Ntα-amylase</i>	-0.719	0.435	0.461	-0.704	0.683	0.676
	<i>Ntβ-amylase</i>	-0.234	-0.166	-0.141	-0.859*	0.842*	0.878*
	<i>NtSP</i>	0.700	-0.561	-0.567	0.322	-0.264	-0.308
糖代谢基因 Sugar metabolism related genes	<i>NtSPSA</i>	-0.098	-0.324	-0.296	0.118	-0.046	-0.090
	<i>NtSPSB</i>	-0.292	-0.088	-0.077	0.305	-0.269	-0.268
	<i>NtSPSC</i>	-0.179	0.343	0.305	0.153	-0.201	-0.140
	<i>NtSPP1</i>	-0.468	0.386	0.384	0.157	-0.099	-0.146
	<i>NtSPP2</i>	-0.807	0.785	0.772	-0.271	0.344	0.300
	<i>NtSuS</i>	-0.535	0.416	0.416	-0.516	0.546	0.527
	<i>NtVIN</i>	0.019	-0.425	-0.413	-0.366	0.426	0.383

注：*为显著性相关，**为极显著性相关。Note:* and** respectively indicates significant correlation of 0.05 and 0.01 level.

3 讨论

烟叶烘烤过程中碳水化合物含量变化显著，淀粉在淀粉酶的作用下大量分解，同时糖类在相关酶的作用下进行呼吸消耗，但淀粉产生的糖量大大超过呼吸消耗的糖量，因此，采后离体烟叶淀粉含量逐渐下降，而糖含量逐渐增加^[29-30]。本研究中豫烟 12 号和秦烟 96 生态条件、栽培措施和生育期一致，但成熟期烟叶中营养物质差异较大，秦烟 96 鲜烟淀粉含量极显著高于豫烟 12 号，这可能与烤烟品

种本身的基因表达量关系密切；采后 30 h 时，秦烟 96 淀粉降解率大于豫烟 12 号，而糖含量增加率却低于豫烟 12 号，一定程度上说明秦烟 96 采后烟叶呼吸代谢旺盛，消耗糖较多，即秦烟 96 烘烤过程中烟叶碳水化合物降解转化较豫烟 12 号充分。

碳代谢是烟株生长发育、产量和品质形成过程中最基本的代谢过程，烟叶碳代谢既受烟株本身遗传基因的支配，又受环境条件和栽培技术的影响，是一种多基因系统与环境因素交互作用的结果^[31]。

从豫烟 12 号和秦烟 96 鲜烟叶 (0 h) 中淀粉和糖代谢相关酶基因的表达量的差异对比可以看出, 秦烟 96 鲜烟叶中淀粉和糖代谢的相关酶基因 *NtAGPS3*、*NtGBSS1*、*NtSSI*、*NtSS2*、*NtSBE1*、*NtSBE2*、*NtISO2*、*NtISO3*、*NtSP*、*NtSPSA*、*NtSPSB*、*NtSPSC*、*NtSPPI*、*NtSPP2*、*NtSuS* 和 *NtVIN1* 的表达量均显著高于豫烟 12 号, 而淀粉分解的关键酶基因 *Nta-amylase* 和 *Nt β -amylase* 表达量却显著低于豫烟 12 号, 说明同一生态环境和栽培措施条件下, 秦烟 96 成熟期淀粉合成代谢和糖代谢较豫烟 12 号强, 因此秦烟 96 鲜烟叶中淀粉含量显著高于豫烟 12 号。这与品种自身的遗传特性和适应性有关。有研究表明, 豫烟 12 号不耐肥, 在高氮条件下碳代谢弱, 氮代谢强, 成熟特性较差, 难落黄^[32]; 而秦烟 96 则是一个能够兼顾品质、抗性、产量、适应性等方面的优良品种^[33]。

AGPase 是淀粉合成的限速酶, 该酶活性的大小直接决定淀粉合成的速率和最终合成量多少^[15]; 颗粒结合型淀粉合成酶 *GBSS* 主要参与直链淀粉的合成, 是植物中研究最多的一类淀粉合成酶^[16]。本研究发现, 豫烟 12 号和秦烟 96 淀粉合成的关键酶基因为 *NtAGPS1*, *NtAGPS1* 在采后烟叶中呈逐渐下调趋势, 且与采后烟叶淀粉、糖含量变化呈显著相关性, 是采后烟叶碳水化合物代谢的关键基因; *NtAGPS3* 和 *NtGBSS1* 在鲜烟叶中的表达量明显高于采后烟叶, 说明鲜烟叶以淀粉合成代谢为主, 采后烟叶淀粉合成代谢迅速减弱, 且直链淀粉合成速率明显下降; 相关性分析结果表明, 直链淀粉合成的关键酶基因 *NtGBSS1* 与豫烟 12 号淀粉含量变化成显著正相关, 与其他碳水化合物变化相关性较高, 是采后烟叶淀粉代谢的关键控制基因。可溶性淀粉合成酶 (*SS*) 与淀粉粒结合程度较弱, 主要参与支链淀粉中分支链的合成^[17], 淀粉分支酶 (*SBE*) 的主要功能是水解 α -1,4-糖苷键, 形成 α -1,6-糖苷键, 连接形成支链淀粉的分支结构^[18]。本研究分析发现, 豫烟 12 号和秦烟 96 采后烟叶中支链淀粉合成相关酶基因 *NtSSI*、*NtSS2*、*NtSBE1* 和 *NtSBE* 的表达量或呈缓慢下降趋势, 或呈逐渐上调趋势, 即采后一

定时间内相关基因表达量较高, 采后烟叶支链淀粉合成代谢减弱缓慢甚至有逐渐加强趋势。玉米不同淀粉链研究^[34]中发现, 直链淀粉比例高, 结构致密性强, 不易水解。推测采后烟叶内部淀粉形态重新发生分配, 直链淀粉逐渐向更易水解的支链淀粉转化, 为淀粉降解并维持细胞生命活动做准备。拟南芥中包括 3 种异淀粉酶 (*ISO1*、*ISO2* 和 *ISO3*), 在淀粉合成中起最后修饰作用^[19-21], 本研究中 *NtISO1*、*NtISO2* 和 *NtISO3* 基因表达量在成熟、采收后呈无序增降模式, 这可能与该基因在淀粉合成和降解中的双重作用有关。淀粉降解主要通过淀粉酶 (*Nta-amylase*、*Nt β -amylase*) 和淀粉磷酸化酶 (*NtSP*) 进行, 且水解和磷酸解两种途径均需要 *R* 酶 (*NtSRI*) 的参与才能彻底完成^[22-24]。本研究结果表明, 采后烟叶中 *Nta-amylase* 和 *Nt β -amylase* 的表达量较高, 说明采后烟叶功能正由积累淀粉向分解淀粉逐渐转化, 采后 30 h 内, 豫烟 12 号 *Nta-amylase* 和 *Nt β -amylase* 表达量呈先升后降趋势, 秦烟 96 则呈逐渐上调趋势, 这可能与底物即烟叶淀粉含量的多少有关, 秦烟 96 烟叶在采后 24~30 h *NtSRI* 和 *NtSP* 的表达量有明显上调, 即秦烟 96 采后烟叶较豫烟 12 号淀粉降解更快、更彻底。

在糖代谢中, 蔗糖磷酸合成酶和蔗糖合成酶是控制碳素分配和流向的关键酶, 能够调控植物叶片中蔗糖的合成和总糖的积累^[25-27]。液泡转化酶 (*VIN*) 则催化蔗糖分解形成葡萄糖和果糖, 参与植物渗透调节和细胞膨大, 调控贮藏器官中糖成分及比例^[28]。本研究结果发现, 豫烟 12 号糖代谢相关酶基因 *NtSPSA*、*NtSPSB*、*NtSPSC*、*NtSPPI*、*NtSPP2*、*NtSuS* 和 *NtVIN1* 在采后烟叶中的表达量均呈先上升后下降趋势, 说明采后烟叶糖代谢旺盛, 当糖代谢底物消耗殆尽或叶片衰老至一定程度, 糖代谢减弱; 秦烟 96 糖代谢相关酶基因表达量则呈明显上调趋势, 推测秦烟 96 成熟烟叶营养物质充实, 糖代谢周期持续时间长, 因此 30 h 内糖代谢相关基因表达量持续上调; 秦烟 96 采后烟叶中糖代谢相关酶基因表达量除 *NtSuS* 外均整体强于豫烟 12 号, 即秦烟 96 采后烟叶糖代谢较豫烟 12 号更活跃。

4 结 论

本研究结果表明：(1) 采后烟叶的淀粉合成代谢减弱，分解代谢加强，*NtAGPSI* 和 *NtGBSSI* 是采后离体烟叶中碳代谢途径的关键调控基因；离体烟叶直链淀粉合成代谢持续减弱，支链淀粉合成代谢减弱缓慢甚至有上调趋势，推测采后烟叶内部淀粉形态重新发生分配，直链淀粉逐渐向更易水解的支链淀粉转化；采后烟叶糖代谢先逐渐旺盛，当糖代谢底物消耗殆尽或叶片衰老至一定程度，糖代谢又减弱；(2) 同一生态条件（豫西烟区）和栽培措施下，秦烟 96 成熟鲜烟叶中淀粉和糖代谢较豫烟 12 号强，营养物质充实，且采后烟叶中淀粉分解代谢和糖代谢旺盛，碳水化合物降解转化更加充分；(3) 本研究从分子生物学角度分析了同一生态条件下不同烤烟品种采后烟叶淀粉和糖代谢的规律和差异，为进一步探究烘烤过程中烟叶碳代谢规律奠定了试验基础和理论基础。

参考文献

- [1] 鲁黎明, 陈勇, 鲁逸飞, 等. 低钾胁迫对烟草幼苗碳氮代谢基因表达谱的影响[J]. 中国烟草科学, 2015, 36(4): 12-17.
LU L M, CHEN Y, LU Y F, et al. The impact of low potassium stress on tobacco gene expression profiles of carbon and nitrogen metabolism[J]. Chinese Tobacco Science, 2015, 36(4): 12-17.
- [2] 刘国顺, 何永秋, 杨永锋, 等. 不同钾肥施肥对烤烟质体色素和碳氮代谢及品质的影响[J]. 中国烟草科学, 2013, 34(6): 49-55.
LIU G S, HE Y Q, YANG Y F, et al. Effects of combining application of various potassium fertilizers on plastid pigment, carbon-nitrogen metabolism and quality in flue-cured tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2013, 34(6): 49-55.
- [3] 唐煌, 张军杰, 鲁黎明, 等. 四川三大烟区烤烟淀粉分解酶类及其基因表达差异分析[J]. 南方农业, 2017, 11(25): 31-36.
TANG H, ZHANG J J, LU L M, et al. Analysis on the difference of starch decomposing enzymes and their gene expression in flue-cured tobacco of three large tobacco planting areas in Sichuan[J]. South China Agriculture, 2017, 11(25): 31-36.
- [4] 王涛. 烤烟烟叶淀粉颗粒结构与特性研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2013.
WANG T. Study on granule structure and characteristics of flue-cured tobacco leaves starch[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2013.
- [5] 张松涛, 杨永霞, 滑夏华, 等. 不同生态区烟叶淀粉生物合成动态比较研究[J]. 中国烟草学报, 2012, 18(4): 31-34, 40.
ZHANG S T, YANG Y X, HUA X H, et al. Comparison of dynamic metabolism of starch biosynthesis in tobacco leaves from different ecological zones[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2012, 18(4): 31-34, 40.
- [6] 张嘉炜, 杨永霞, 冯小虎, 等. 添加生物碳对烤烟碳氮代谢的影响[J]. 江西农业学报, 2016, 28(3): 1-6.
ZHANG J W, YANG Y X, FENG X H, et al. Effects of biochar on carbon and nitrogen metabolism of flue-cured tobacco[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2016, 28(3): 1-6.
- [7] 贾宏昉, 陈红丽, 黄化刚, 等. 施用腐熟秸秆肥对烤烟成熟期碳代谢途径影响的初报[J]. 中国烟草学报, 2014, 20(4): 48-52.
JIA H F, CHEN H L, HUANG H G, et al. Preliminary report on effect of applying rotten straw fertilizer on carbon metabolism in maturing flue-cured tobacco[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2014, 20(4): 48-52.
- [8] 杨胜男, 张洪映, 连文力, 等. 复合有机肥对烤烟淀粉生物合成的影响[J]. 中国烟草学报, 2016, 22(1): 64-70.
YANG S N, ZHANG H Y, LIAN W L, et al. Effect of compound organic fertilizer on starch biosynthesis in flue-cured tobacco leaves[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2016, 22(1): 64-70.
- [9] 王红丽, 杨惠娟, 苏菲, 等. 氮用量对烤烟成熟期叶片碳氮代谢及萜类代谢相关基因表达的影响[J]. 中国烟草学报, 2014, 20(5): 116-120.
WANG H L, YANG H J, SU F, et al. Effects of nitrogen on expression of key genes related to carbon/nitrogen metabolism and terpenoid metabolism in maturing flue-cured tobacco leaves[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2014, 20(5): 116-120.
- [10] 王涛, 贺帆, 詹军, 等. 烤烟淀粉微观结构特性及其与品质关系研究进展[J]. 中国烟草科学, 2013, 34(1): 102-106.
WANG T, HE F, ZHAN J, et al. Research advance in microstructure and properties of tobacco starch and their relationship with the quality[J]. Chinese Tobacco Science, 2013, 34(1): 102-106.
- [11] 王怀珠, 杨焕文, 郭红英. 烘烤过程中不同成熟度烟叶淀粉的降解动态[J]. 烟草科技, 2004(10): 36-39.
WANG H Z, YANG H W, GUO H Y. Studies on starch degradation in tobacco leaves of different maturity during flue-curing[J]. Tobacco Science & Technology, 2004(10): 36-39.
- [12] 王洪波, 徐玉琼, 王颖, 等. 高氯酸超声萃取—连续

- 流动法测定烟草中的淀粉[J]. 烟草科技, 2009(5): 44-47.
- WANG H B, XU Y Q, WANG Y, et al. Determination of starch in tobacco by ultrasonic extraction and continuous flow method[J]. Tobacco Science & Technology, 2009(5): 44-47.
- [13] 丁福章, 李继新, 袁有波, 等. 烟草不同组织总 RNA 的提取方法初探[J]. 中国农学通报, 2007, 23(12): 98-101.
- DING F Z, LI J X, YUAN Y B, et al. Effective isolation of total RNA from tobacco tissues[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(12): 98-101.
- [14] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. METHODS, 2001, 25: 402-408.
- [15] 袁亮, 潘光堂, 张志明, 等. 植物中淀粉的代谢及其调控研究进展[J]. 分子植物育种, 2006, 4(6S): 65-72.
- YUAN L, PAN G T, ZHANG Z M, et al. Research progress of starch metabolism and its regulation in plants[J]. Molecular Plant Breeding, 2006, 4(6S): 65-72.
- [16] 张海艳, 董树亭, 高荣岐. 植物淀粉研究进展[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(1): 41-46.
- ZHANG H Y, DONG S T, GAO R Q. The study progress in plant starch[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2006, 21(1): 41-46.
- [17] 康国章, 王永华, 郭天财, 等. 植物淀粉合成的调控酶[J]. 遗传, 2006, 28(1): 110-116.
- KANG G Z, WANG Y H, GUO T C, et al. Key enzymes in starch synthesis in plants[J]. Hereditas(Beijing), 2006, 28(1): 110-116.
- [18] TAKEDA Y, GUAN H P, PREISS J. Branching of amylose by the branching isoenzymes of maize endosperm[J]. Carbohydrate Research, 1993, 240: 253-263.
- [19] 黄冰艳, 李忠谊, 吉万全, 等. 利用 RNA 干扰技术抑制水稻淀粉极限糊精酶基因表达[J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(1): 71-75.
- HUANG B Y, LI Z Y, JI W Q, et al. Down-regulation of rice pullulanase gene expression by RNA interference[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2007, 15(1): 71-75.
- [20] 郑义, 陆维忠, 马鸿翔. 植物淀粉生物合成的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2009(6): 13-16.
- ZHENG Y, LU W Z, MA H X. Progress of biosynthesis of plant starch[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2009(6): 13-16.
- [21] BUSTOS R, FAHY B, HYLTON C M, et al. Starch granule initiation is controlled by a heteromultimeric isoamylase in potato tubers[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2004, 101(7): 2215-2220.
- [22] 张晓宇, 艾志录, 李梦琴, 等. 极限糊精酶的研究进展及展望[J]. 中国食品添加剂, 2004(3): 32-35, 72.
- ZHANG X Y, AI Z L, LI M Q, et al. The research progress and prospect of limit dextrinase[J]. China Food Additives, 2004, 03:32-35,72.
- [23] 张东方, 崔大方, 赵赣, 等. 植物叶片暂时淀粉分解途径研究进展[J]. 西北植物学报, 2011, 31(9): 1927-1932.
- ZHANG D F, CUI D F, ZHAO G, et al. Advance on the pathway of transitory starch degradation in leaves[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31(9): 1927-1932.
- [24] 段丽斌, 崔国民, 赵昶灵, 等. 烤烟烘烤中烟叶淀粉降解的研究进展[J]. 中国农学通报, 2013, 29(18): 180-186.
- DUAN L B, CUI G M, ZHAO C L, et al. Research advances in the degradation of the leaf starch of the flue-cured tobacco during flue-curing[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29(18): 180-186.
- [25] 黄东亮, 李双喜, 廖青, 等. 植物蔗糖磷酸合成酶研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2012, 32(6): 109-119.
- HUANG D L, LI S X, LIAO Q, et al. Advances on sucrose phosphate synthase in plants[J]. China Biotechnology, 2012, 32(6): 109-119.
- [26] 张永平, 乔永旭, 喻景权, 等. 园艺植物果实糖积累的研究进展[J]. 中国农业科学, 2008, 41(4): 1151-1157.
- ZHANG Y P, QIAO Y X, YU J Q, et al. Progress of researches of sugar accumulation mechanism of horticultural plant fruits[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(4): 1151-1157.
- [27] 张明方, 李志凌. 高等植物中与蔗糖代谢相关的酶[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(3): 289-294.
- ZHANG M F, LI Z L. Sucrose-metabolizing enzymes in higher plants[J]. Plant Physiology Communications, 2002, 38(3): 289-294.
- [28] 刘炳清, 许嘉阳, 黄化刚, 等. 不同海拔下烤烟碳氮代谢相关酶基因的表达差异分析[J]. 植物生理学报, 2015, 51(2): 183-188.
- LIU B Q, XU J Y, HUANG H G, et al. Analysis of differential gene expression of the related enzymes in carbon and nitrogen metabolism of flue-cured tobacco at different altitudes[J]. Plant Physiology Journal, 2015, 51(2): 183-188.
- [29] 官长荣. 烟草调制学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- GONG C R. Tobacco modulation[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011.
- [30] 李春艳, 聂荣邦. 烟叶烘烤过程中部分化学成分的动态变化研究进展[J]. 作物研究, 2005(5): 390-394.
- LI C Y, NIE R B. Research progress in dynamic changes

- of some chemical components during flue curing[J]. Crop Research, 2005(5): 390-394.
- [31] 张生杰, 黄元炯, 任庆成, 等. 不同基因型烤烟烟叶碳氮代谢差异研究[J]. 华北农学报, 2010, 25(3): 217-220.
ZHANG S J, HUANG Y J, REN Q C, et al. Differences in foliar carbon and nitrogen metabolism among genotypes of flue-cured tobacco[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2010, 25(3): 217-220.
- [32] 张凯. 洛阳烟区烤烟品种筛选与配套技术的推广应用[D]. 郑州: 河南农业大学, 2015.
ZHANG K. Screening of varieties of flue-cured tobacco and promotion and application of the supporting technology in Luoyang tobacco-growing areas[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2015.
- [33] 孙渭, 陈志强, 马英明, 等. 烤烟新品种秦烟 96 的选育及其特征特性[J]. 中国烟草科学, 2012, 33(2): 28-33.
SUN W, CHEN Z Q, MA Y M, et al. Breeding and characteristics of a new flue-cured tobacco variety Qinyan96[J]. Chinese Tobacco Science, 2012, 33(2): 28-33.
- [34] 李佳佳, 卢未琴, 高群玉. 不同链淀粉含量玉米微晶淀粉理化性质研究[J]. 粮食与油脂, 2011(2): 13-17.
LI J J, LU W Q, GAO Q Y. Studies on physicochemical properties of microcrystalline starches made from different content of amylose[J]. Cereals & Oils, 2011(2): 13-17.

《中国烟草学报》2018 年第 1 期目次

- 1 葡萄糖改性对活性炭吸附与脱附 β -苯乙醇性能的影响.....李智宇, 者为, 周叶燕, 等
- 6 基于近红外光谱分析技术结合化学计量学方法的初烤烟叶霉变预测研究.....周继月, 杨盼盼, 刘磊, 等
- 14 大气沉降对烟叶重金属含量的影响及铅同位素示踪.....戴华鑫, 张仕祥, 王爱国, 等
- 21 利用色差测定再造梗丝回填率.....蒋宇凡, 徐光忠, 俞京, 等
- 28 氯化血红素诱导烟草抵御碱胁迫的初步研究.....刘紫薇, 杨庆根, 张朝, 等
- 38 低氮胁迫对烟草生物学性状、生长素及 *NtPINs* 基因家族的影响.....王立志, 魏跃伟, 黄明月, 等
- 45 不同基因型烟草腺毛主要分泌物差异分析.....屈亚芳, 许明录, 曹建敏, 等
- 53 烤烟杯罩移栽对井窖环境水热和烟苗生长的影响.....陈维林, 林叶春, 高维常, 等
- 60 打顶对烟草叶片多酚代谢及其关键酶的影响.....杨银菊, 张彦, 王树声, 等
- 68 采收时期及调制方式对万源晒烟调制前后氨基酸含量变化的影响.....李晶晶, 史宏志, 杨兴有, 等
- 77 生物炭类型对植烟土壤碳库及烤后烟叶质量的影响.....叶协锋, 周涵君, 李志鹏, 等
- 86 集成 TRIZ 的精益物流管理模式在烟草商业系统应用研究.....谌亮, 桂寿平
- 93 结构方程模型在卷烟产品市场评估中的应用研究.....刘小川, 魏小虎
- 100 湖南省烟农专业合作社的自我发展能力评价.....曾尚梅, 张斯维, 李继志, 等
- 106 烟农合作社引入农业职业经理人的制约因素及对策研究.....夏芳, 刘文丽, 曾尚梅, 等
- 111 互联网售烟行为的规制.....云鹤
- 116 我国烤烟品种的发展现状及对策展望.....马文广, 周义和, 刘相甫, 等