

海拔对白肋烟质体色素含量及 相关基因表达的影响

王 京¹, 王艳丽¹, 杨永霞¹, 吴文昊², 王 瑞², 向必坤², 许自成^{1*}

(1 河南农业大学 烟草学院, 郑州 450002; 2 湖北省烟草公司恩施州公司, 湖北恩施 445000)

摘 要:以‘鄂烟 1 号’为供试品种, 于湖北恩施选取高、中、低 3 个海拔(海拔高度分别为 1 560 m、1 200 m、800 m)种植区, 研究不同海拔白肋烟主要生育期(旺长期、成熟期)内烟叶质体色素含量及其合成代谢过程中相关基因表达的差异, 探讨白肋烟质体色素代谢对海拔高度的生理响应机制。结果表明: 烟叶叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总量及旺长期类胡萝卜素总量均以中海拔地区最高, 且显著或极显著高于其他海拔梯度; 成熟期高海拔烟叶类胡萝卜素总量最高, 且较旺长期明显增加。叶绿素及旺长期类胡萝卜素合成有关的基因均为中海拔表达最强, 成熟期类胡萝卜素合成基因在高海拔表达最强。结果说明‘鄂烟 1 号’更适宜种植在中海拔地区。

关键词:白肋烟; 海拔; 质体色素; 基因表达

中图分类号: Q945.79; Q789

文献标志码: A

Effect of Different Altitudes on the Contents of Plastid Pigment and Related Genes Expression of Burley Tobacco

WANG Jing¹, WANG Yanli¹, YANG Yongxia¹, WU Wenhao²,
WANG Rui², XIANG Bikun², XU Zicheng^{1*}

(1 Tobacco College of Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2 Enshi Branch of Hubei Province Tobacco Company, Enshi, Hubei 445000, China)

Abstract: Taking E'yan 1 as the material and selecting three altitudes which were the altitude of 1 560 m, 1 200 m and 800 m, respectively, we investigated the difference of the contents of plastid pigment and related genes expression of burley tobacco in Enshi at the fast grow stage and the mature stage. The results showed that the contents of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll in burley tobacco leaves at medium altitude were the highest, and the content of total carotenoids at the fast grow stage among different altitude had the same trend. The difference between medium altitude and other altitudes was significant or very significant. The leaves of burley tobacco in high altitude had the higher content of total carotenoids at the mature stage and the content of total carotenoids increased fast compared to fast grow stage. In medium altitude planting area, the expression of chlorophyll synthesis genes at two growth stages and carotenoid synthesis genes at fast grow stage were efficient, while the efficient expression of the genes related carotenoid synthesis at mature stage appeared in high altitude planting area. Medium altitude was more suitable for planting E'yan 1.

Key words: burley tobacco; altitude; plastid pigment; gene expression

收稿日期: 2014-07-18; 修改稿收到日期: 2014-10-27

基金项目: 中国烟草总公司科技计划面上项目(中烟办[2012]122 号); 中国烟草总公司湖北省公司科技攻关项目(027Y2011-050)

作者简介: 王 京(1989—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事烟草品质生态学研究。E-mail: nongdawangjing@163.com

* 通信作者: 许自成, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草质量评价研究。E-mail: zcxu@sohu.com

绿色植物物质体色素主要包括叶绿素和类胡萝卜素,其作为光合色素参与的光合作用是绿色植物生长发育及形态建成的基础^[1]。烟草质体色素作为重要的香气前体物质,对烟草特色香气风格的形成具有重要影响。在烟叶调制过程中,叶绿素分解形成的新植二烯是烟叶中含量最大的中性挥发物,其香气阈值较高,具有一定的清香味,是烟叶重要的增香剂;类胡萝卜素降解因双键断裂位置不同,形成多种重要的香气物质,如巨豆三烯酮、 β -大马酮、螺岩兰草酮等^[2-3]。

生态环境因素决定了烟叶质量和风格的形成^[4],海拔高度作为一个重要的生态因子对烟草的生长发育、物质代谢及品质有重要的影响。随着海拔升高,大气温度、 CO_2 浓度、大气压等随之降低,光照强度增强,烟苗移栽期推迟,烟株生长速度逐渐减慢,株高稍矮,茎围稍粗,叶片较窄,大田生育期和成熟期逐渐增长^[5-7]。不同海拔地区烟叶化学成分也存在差异。有研究表明随着海拔升高,烟叶还原糖含量增加,烟碱含量则随海拔升高而降低^[8]。曹学鸿等^[9]也认为烟叶中总糖、还原糖含量与海拔高度呈正相关关系,总氮、烟碱含量则与海拔高度呈负相关关系,中海拔地区(800~1 400 m)烟叶化学成分协调性好于其他海拔层次。海拔对烟叶中性致香物质含量也有较大的影响,甄才宏等^[10]对 600~1 700 m 海拔区域烟叶中性致香物质含量比较发现,800 m 海拔地区烟叶中性致香物质总量及各组分含量均最高,1 300 m 海拔地区最低。有关海拔高度对绿色植物物质体色素含量变化的研究多见于云杉、莨菪等植物。前人对云杉、落叶松的研究表明,植物叶片中叶绿素和类胡萝卜素含量均随海拔的升高而降低^[11-12]。张波等^[13]对青藏高原不同海拔唐古特山莨菪叶片光合色素含量比较表明高海拔地区质体色素含量明显高于低海拔地区。关于不同海拔对白肋烟质体色素代谢的影响还鲜见报道。本试验研究了白肋烟质体色素随海拔梯度的变化及相关合成代谢基因的表达规律,旨在分析白肋烟质体色素代谢对海拔高度的生理响应机制,为研究恩施烟区

特色白肋烟品种在不同海拔生态环境中烟叶品质的形成过程提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验地概况和试验设计

试验地点设在湖北省恩施市崔坝镇,设置低、中、高 3 个海拔梯度,分别为滚龙坝(800 m)、水淌(1 200 m)、马跑山(1 560 m)。供试品种为当地白肋烟主栽品种‘鄂烟 1 号’。各试验地土壤理化性质基本一致,基础肥力见表 1。

3 个海拔试验地土壤均为黄棕壤,质地疏松,肥力中等。各海拔高度设 3 次重复,小区面积 65 m²,行株距 120 cm×60 cm,本试验采用的肥料分别为烟草专用复合肥、重过磷酸钙、硫酸钾,N:P₂O₅:K₂O=1:1:2。结合当地施肥习惯,70%复合肥和全部的重过磷酸钙于整地后移栽前条施,30%复合肥和 50%硫酸钾于移栽时穴施,余下的硫酸钾于移栽后 30 d 做追肥施用。其他田间栽培管理措施及病虫害防治均按照当地优质烟叶生产管理要求进行。高、中、低海拔烟株移栽时间分别为 5 月 12 日、5 月 7 日和 5 月 3 日。于旺长期和成熟期选取各处理长势均匀一致的烟株 3 株,取中部叶 6 至 10 支脉之间的叶片,迅速置于液氮中低温保存。

1.2 测定内容和方法

1.2.1 质体色素代谢基因表达检测 取适量冷冻烟叶叶片,用 Trizol 法提取总 RNA^[14],随机引物法反转录合成 cDNA。以 cDNA 为模板,Primer Premier 5 软件设计扩增引物(表 2),以 L25(烟草核糖体蛋白基因)为内参^[15],采用 RT-PCR 法检测质体色素代谢途径关键基因的表达状况。各基因对应的合成代谢关键酶名称及功能见表 3。

PCR 体系为:cDNA 为 1 μL ,diH₂O(去离子水)为 11 μL ,上游引物和下游引物均为 1.5 μL ,含染料的 Taqmix 为 15 μL ,整个 PCR 体系共 30 μL 。反应程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s;退火温度依各引物 T_m 值变化而变化(47 $^{\circ}\text{C}$ ~60 $^{\circ}\text{C}$);72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min;35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min,于 4

表 1 不同海拔高度土壤基础肥力状况

Table 1 The soil fertilities of experimental fields in different altitudes

海拔高度 Altitude/m	pH	有机质 OM/(g·kg ⁻¹)	全氮 TN/%	速效磷 AP/(mg·kg ⁻¹)	速效钾 AK/(mg·kg ⁻¹)	碱解氮 AN/(mg·kg ⁻¹)
低海拔 Low altitude	5.90	23.50	0.27	26.10	235.00	132.61
中海拔 Middle altitude	5.80	24.22	0.34	24.10	210.00	119.25
高海拔 High altitude	5.60	24.87	0.28	25.58	212.50	139.98

表 2 引物序列及 PCR 扩增基因片段

Table 2 The primer sequences and gene fragments amplified by PCR

基因 Gene	登录号 Accession No.	引物序列 Primer sequence(5'-3')	
		正向 Forward	反向 Reverse
<i>L25</i>	L18908	GCTTTCTTCGTCCCATCA	CCCCAAGTACCCTCGTAT
<i>CAB</i>	AY219853.1	ACTATGGTTGGGACACTGCT	ACCTCCTGGGTAAATCTTGT
<i>PDS</i>	AJ616742.1	CCCTGACGAGCTTTCGATGC	TTATCACAGGAACTCCCACT
<i>PSY</i>	HM345582.1	ATGGGACAGGATTCTTGGAT	TTGCGGAGTTATGTGGGATG
<i>ZEP</i>	JY284576	GAAGTCGCCGTAAAGACTGG	TGAAGCCGCAGGAGTGAAAG
<i>ZDS</i>	JF975566.1	TTGTTGATAGACGTGGAAAC	ACACCGAGCACTGATATTGT
<i>LCYe</i>	HQ993098.1	GTCCTGCTGGTCTTGCTCTT	GGAATGACAATGTCGCCCTC
<i>LCYb</i>	X81787.1	TGGAAGGGTTAATCGGAAAC	TGAGGGATGAACCAGACCAG
<i>PAO</i>	AY492174.1	GGGCATTGAAAACCTGGAAGA	TTACTTGCGCATCAAAAATG
<i>CLH</i>	EU294210	GTTGCAACCTGTCAGCAT	TGGTGTCTGACTCGACTT
<i>CCD1</i>	KC747730	TGAAACTCCTCCTTTTAAGAAC	CGCATCTAGATCTGGATTCTGC
<i>CHL I</i>	AF014052	GGTGGAACCTGTTAGCCT	TTGGGTCTGAATCGAAGT

表 3 参与质体色素合成代谢的酶及编码基因

Table 3 The gene encoding enzymes and the enzymes involved in plastid pigment anabolism

基因 Gene	酶 Enzyme	功能 Function
<i>CAB</i>	捕光叶绿素 a/b 结合蛋白 Chlorophyll a/b-binding protein	编码叶绿素结合蛋白 a/b Encoding chlorophyll-binding protein a/b
<i>PDS</i>	八氢番茄红素脱氢酶 Phytoene desaturase	催化八氢番茄红素向 ζ -胡萝卜素的转化 Catalyzing the transformation from phytoene to ζ -carotene
<i>PSY</i>	八氢番茄红素合成酶 Phytoene synthase	类胡萝卜素合成途径重要的限速酶 The important rate-limiting enzyme for carotenoid synthesis
<i>ZEP</i>	玉米黄素环氧化酶 Zeaxanthin epoxidase	催化来源于 C(40) 类胡萝卜素的玉米黄素经过两次环氧化形成紫黄质 Catalyzing the epoxidation of zeaxanthin which is one of C (40) form of carotenoid and turning into violaxanthin
<i>ZDS</i>	ζ -胡萝卜素脱氢酶 ζ -carotene desaturase	催化 ζ -胡萝卜素向番茄红素的转化 Catalyzing the transformation from ζ -carotene to lycopene
<i>LCYe</i>	番茄红素- ϵ -环化酶 Lycopene- ϵ -cyclase	催化番茄红素形成 ϵ -环,从而合成 α -胡萝卜素 Catalyzing lycopene transformation and ϵ -cycle formation,and the synthesis of α -carotene
<i>LCYb</i>	番茄红素- β -环化酶 Lycopene- β -cyclase	催化番茄红素形成 β -环,从而合成 β -胡萝卜素 Catalyzing lycopene transformation and β -cycle formation,and the synthesis of β -carotene
<i>PAO</i>	脱镁叶绿酸 a 加氧酶 Pheophorbide a monooxygenase	叶绿素分解代谢过程中的关键限速酶 The key rate-limiting enzyme for chlorophyll catabolism
<i>CLH</i>	叶绿素酶 Chlorophyllase	将叶绿素水解成为羧酸的脱植基叶绿素和高级一价醇叶绿素(植醇) Hydrolyzing chlorophyll to chlorophyllido of carboxylic acids and phytol
<i>CCD 1</i>	类胡萝卜素裂解双氧合酶 Carotenoid cleavage dioxygenases	可催化很多类胡萝卜素底物生成许多天然活性化合物 Catalyzing many carotenoid substrates turning into a number of natural bioactive compounds
<i>CHL I</i>	镁离子螯合酶 Mg-chelatase	四吡咯化合物生物合成途径中合成叶绿素分支(镁分支)的第一个酶,该酶不仅控制着叶绿素的合成,其不同亚基还参与叶绿体到细胞核的反向信号传导 It is the first enzyme of the chlorophyll branches (branch of magnesium) of tetrapyrrole compounds biosynthesis controlling the synthesis of chlorophyll,and its different subunits is involved in a reverse signal transduction from chloroplast to the nucleus

℃保存。

1.2.2 质体色素含量的测定 采用低温冷冻干燥机将烟叶样品冻干,粉碎机粉碎后,准确称取 0.2 g 粉碎烟样置于 50 mL 棕色瓶中,准确加入 25 mL 90%丙酮溶液,轻微震荡后低温条件下超声波萃取 20 min,用移液管取适量萃取液后用有机膜(0.45 μ m)过滤,移入 1.5 mL 棕色色谱瓶(液相色谱分析仪)。

工作条件为 Symmetry C₁₈ 反相色谱柱(3.9

mm i. d. $\times$ 150 mm,5 μ m,美国 Waters 公司),流动相 A 为甲醇的异丙醇溶液(体积比为 1:1),流动相 B 为超纯水。流速 0.5 mL/min。梯度洗脱:0~10 min(70% A+30% B),10~17 min(100% A),17~30 min(90% A+10% B)。以梯度洗脱线性递增(减)的梯度条件,平衡 10 min 后手动进样。进样量 10 μ L。检测波长 450 nm。柱温为室温。

1.3 数据处理

采用 Excel 2003、SPSS 19.0 等统计软件进行

数据分析。并用 LaunchVisionWorksLS 软件对 RT-PCR 检测所得半定量图片进行量化,提取各个基因表达的亮度相对值进行对比,每个基因均以旺长期高海拔处理为基准。

2 结果与分析

2.1 不同海拔白肋烟质体色素代谢关键基因的表达分析

2.1.1 叶绿素代谢关键基因的表达差异 对叶绿素代谢关键基因 *CAB*、*CHL I*、*PAO*、*CLH* 进行 RT-PCR 检测分析(图 1、表 4),结果表明,旺长期叶绿素合成关键基因 *CAB* 和 *CHL I* 的表达量均高于成熟期,而参与编码叶绿素分解基因 *PAO*和*CLH*

表达量则正好相反,即成熟期高于旺长期。不同海拔比较,旺长期和成熟期*CAB*均在中海拔表达最强,低海拔最弱;*PAO* 和 *CLH* 表达在旺长期以中海拔最强,成熟期 *CHL I* 和 *CLH* 均随海拔的升高而增强,而 *PAO* 则逐渐减弱。

2.1.2 类胡萝卜素代谢关键基因的表达差异 由图 2 和表 5 可知,旺长期 *PSY*、*ZDS*、*LCYb*、*LCYe*、*ZEP*、*CCD1* 均表现为中海拔表达量最高,而 *PDS* 则随海拔升高表达逐渐增强。成熟期 *PDS* 和 *LCYb* 均在低海拔表达最强,中海拔最弱;*ZDS*、*LCYe*、*ZEP*、*CCD1* 随海拔升高表达逐渐增强;*PSY*

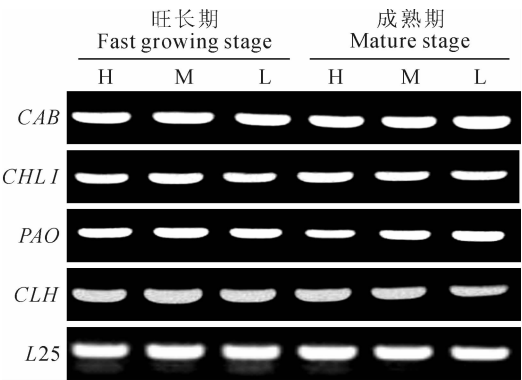


图 1 不同海拔白肋烟叶绿素代谢关键酶基因的检测结果

H. 高海拔;M. 中海拔;L. 低海拔;下同

Fig. 1 The test results of key genes related to chlorophyll metabolism in different altitudes

H. High altitude;M. Middle altitude;L. Low altitude;
The same as below

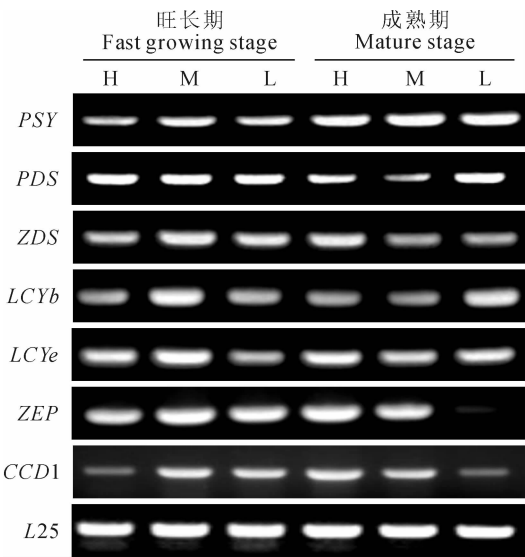


图 2 不同海拔白肋烟类胡萝卜素代谢关键酶基因的检测结果

Fig. 2 The test results of key genes related to carotenoid metabolism in different altitudes

表 4 不同海拔白肋烟叶绿素代谢关键酶基因相对表达量的多重比较

Table 4 The multiple comparison of the relative expression quantity of key genes related to chlorophyll metabolism in different altitudes

基因 Genes	生育期 Growth period	高海拔 High altitude	中海拔 Middle altitude	低海拔 Low altitude
<i>CAB</i>	旺长期 Fast growing stage	100.00b	112.50a	97.02b
	成熟期 Mature stage	95.45a	96.82a	92.76a
<i>CHL I</i>	旺长期 Fast growing stage	100.00b	115.79a	95.13c
	成熟期 Mature stage	96.46a	96.18a	93.66a
<i>PAO</i>	旺长期 Fast growing stage	100.00a	101.24a	96.32b
	成熟期 Mature stage	104.51c	112.28b	123.12a
<i>CLH</i>	旺长期 Fast growing stage	100.00c	108.96a	104.08b
	成熟期 Mature stage	119.76a	112.90b	108.54c

注:对同一生育期不同海拔烟叶中同一基因的相对表达量进行多重比较;同一行中不同小写字母表示不同海拔间差异显著($P<0.05$);表 5 同。

Note:The multiple comparison of relative expression quantity refers to the comparison among different altitudes for same gene and same growth stage;Different small letters in the same row mean significant difference at 0.05 level among different altitudes. The same as in Table 5.

表 5 不同海拔白肋烟类胡萝卜素代谢关键酶基因相对表达量的多重比较
Table 5 The multiple comparison of the relative expression quantity of key genes
related to carotenoid metabolism in different altitudes

基因 Genes	生育期 Growth period	高海拔 High altitude	中海拔 Middle altitude	低海拔 Low altitude
PSY	旺长期 Fast growing stage	100.00c	135.90a	119.27b
	成熟期 Mature stage	165.28c	195.70a	190.18b
PDS	旺长期 Fast growing stage	100.00a	97.76a	91.45b
	成熟期 Mature stage	71.10b	45.62c	95.56a
ZDS	旺长期 Fast growing stage	100.00c	144.70a	121.71b
	成熟期 Mature stage	130.66a	86.49b	84.83b
LCYb	旺长期 Fast growing stage	100.00c	177.01a	121.92b
	成熟期 Mature stage	104.98b	87.75c	167.25a
LCYe	旺长期 Fast growing stage	100.00b	120.70a	68.27c
	成熟期 Mature stage	103.44a	94.49b	92.61b
ZEP	旺长期 Fast growing stage	100.00c	131.42a	120.06b
	成熟期 Mature stage	132.83a	104.26b	4.89c
CCD1	旺长期 Fast growing stage	100.00c	148.16a	136.25b
	成熟期 Mature stage	208.46a	166.19b	93.85c

表 6 不同海拔白肋烟质体色素含量的差异比较
Table 6 The comparison of plastid pigment contents of burley tobacco leaves in different altitudes/(mg·g⁻¹)

项目 Item	旺长期 Fast growing stage			成熟期 Mature stage		
	1 560 m	1 200 m	800 m	1 560 m	1 200 m	800 m
叶绿素 a Chl a	6.715Bb	8.260Aa	6.294Bb	4.545Bb	5.957Aa	4.354Bb
叶绿素 b Chl b	3.028Bb	3.974Aa	2.830Bb	2.249Bb	3.243Aa	2.101Bb
β-胡萝卜素 Beta-carotene	0.837Bc	1.079Aa	1.024Ab	0.905Aa	0.850Aa	0.662Bb
叶黄素 Lutein	0.714Ab	0.941Aa	0.777Aab	0.706Bb	0.775Aa	0.585Cc
新黄质 Neoxanthin	0.180Bc	0.263Aa	0.211Bb	0.233Aa	0.228Aa	0.169Bb
紫黄质 Violaxanthin	0.134ABb	0.152Aa	0.114Bc	0.139Aa	0.090Bb	0.052Cc
叶绿素总量 Total chlorophyll	9.743Bb	12.234Aa	9.124Bb	6.794Bb	9.200Aa	6.454Bb
类胡萝卜素总量 Total carotenoids	1.866Bc	2.435Aa	2.126Bb	1.983Aa	1.944Aa	1.469Bb
Chl a/Chl b	2.217Aa	2.081Aa	2.222Aa	2.021Aa	1.852Aa	2.086Aa
Car/Chl	0.191Ab	0.199Aab	0.235Aa	0.292Aa	0.211Bc	0.228Bb

注:同一行中同一生育期对应的 3 个数字后不同大、小写字母分别表示该指标在不同海拔间差异极显著($P<0.01$)和显著($P<0.05$)。
Note:Different big and small letters after the three values of same growth stage in the same row mean significant difference at 0.01 level and 0.05 level among different altitudes.

在中海拔表达最强,低海拔次之,高海拔最弱。高海拔烟叶成熟期除PDS外各基因表达量均高于旺长期,表明高海拔成熟期烟叶中类胡萝卜素合成分解旺盛。

2.2 不同海拔白肋烟质体色素含量变化的差异

白肋烟各生育期不同海拔间烟叶质体色素含量差异如表 6 所示。烟叶中叶绿素 a、叶绿素 b 含量及叶绿素总量随海拔升高呈现出先升高后降低的趋势,具体表现为:中海拔>高海拔>低海拔,且中海拔极显著高于高海拔和低海拔,高海拔和低海拔差

异不显著。旺长期类胡萝卜素总量及各组分含量的变化规律与叶绿素相似,也表现为先升高后降低。β-胡萝卜素、新黄质、紫黄质含量及类胡萝卜素总量在各海拔间差异均显著,叶黄素含量在中海拔和高海拔间差异达到极显著水平。成熟期除叶黄素含量为中海拔产区最高外,类胡萝卜素总量及其他各组分含量均随海拔升高而逐渐升高。β-胡萝卜素、新黄质含量及类胡萝卜素总量在高海拔和中海拔间差异不显著,但极显著高于低海拔产区,叶黄素和紫黄质含量在各海拔间呈极显著差异。各海拔烟叶叶绿

素 a 含量是叶绿素 b 的 2 倍左右,且随生育进程的推进叶绿素 a/b 有下降的趋势,说明叶绿素 a 的降解速率快于叶绿素 b,烟叶对光能的利用减弱。旺长期低海拔烟叶类胡萝卜素/叶绿素最高,显著高于高海拔烟叶;而成熟期高海拔烟叶该比值最高,不同海拔烟叶类胡萝卜素/叶绿素在 0.05 水平差异显著。

3 讨 论

在旺长期,烟株生长迅速,叶面积迅速扩大,光合速率上升,质体色素含量增加,但随着烟叶成熟,叶片在生育后期感知衰老信号,各项生理代谢减弱,光合速率下降,质体色素加速降解^[1]。研究表明,烟叶中质体色素含量在旺长期处于较高水平,随着烟叶成熟,质体色素含量降低,这与已有研究一致^[16]。烟叶叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总量及旺长期类胡萝卜素总量均以中海拔地区最高,且显著或极显著高于其他海拔梯度,这与曹艳玲等^[17]研究结果一致。也有研究认为叶绿素含量随着海拔升高而降低^[18]。这种代谢差异可能是由于烟株生长的其他生态环境不同引起的,尚需进一步验证。叶绿素 a/b 是衡量植物利用光能力大小的指标。通常认为,随着海拔升高,叶绿素 a/b 比值呈上升趋势^[12,19]。但本研究结果表明叶绿素 a/b 比值在各海拔间差异不显著,可能是由于本试验选取的海拔梯度尚未引起烟叶对不同波长光照的选择性吸收所致。成熟期烟叶类胡萝卜素含量随海拔的升高而逐

渐升高,类胡萝卜素/叶绿素比值在高海拔显著高于中海拔和低海拔,这可能是由于在烟株生育后期高海拔地区的紫外线强度过高,烟株为适应这种逆境胁迫,与类胡萝卜素合成相关的关键酶基因表达量增加,进而调控合成大量类胡萝卜素来调节类囊体膜的物理活性,保护叶绿素不受光氧化伤害^[12,20]。这种类胡萝卜素含量的增加是烟叶为应对环境变化而采取的一种保护性机制,与韩锦峰等^[21]的研究结果一致。

从相关代谢基因 RT-PCR 检测结果可以看出,与质体色素合成相关的基因在旺长期表达活跃,但此时与质体色素降解相关的基因的表达量却维持在较低水平;成熟期相关合成基因的表达量略有下降或维持原有水平,而相关降解基因的表达明显加强,这与质体色素含量随烟叶成熟逐渐下降的趋势一致。表明基因对代谢关键酶的调控是影响烟叶质体色素含量变化的原因之一。

恩施中海拔烟叶质体色素最高,相关基因表达活跃,更有利于烟叶进行光合作用,进而促进烟株物质代谢,为提高烟叶产质量和彰显香气风格提供了物质基础。‘鄂烟 1 号’更适宜在恩施中海拔地区种植。然而,烟叶品质的形成是烟草品种基因型和生态环境综合作用的结果^[4],不同烟草品种在相同生态环境下烟叶化学成分也存在较大差异^[22],鉴于当地白肋烟种植品种较多,恩施白肋烟整体种植区划还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,2006:144—192.
- [2] 史宏志,刘国顺. 烟草香味学[M]. 北京:中国农业出版社,2011:137—144.
- [3] LEFFINGWELL J C, LEFFINGWELL D. Chemical and sensory aspects of tobacco flavor[J]. *Rec. Adv. Tob. Sci.*, 1988, (14):169—218.
- [4] XU Z CH(许自成), LIU G SH(刘国顺), LIU J H(刘金海). Analysis of ecological factors and quality of flue-cured tobacco leaves in Tongshan tobacco-growing areas[J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2005, **25**(7):1 748—1 753(in Chinese).
- [5] QI J(祁建), MA K M(马克明), ZHANG Y X(张育新). The altitudinal variation of leaf traits of *Quercus liaotungensis* and associated environmental explanations[J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2007, **27**(3):930—937(in Chinese).
- [6] CHEN M CH(陈孟传), CHEN J SH(陈继树), DA T SH(答堂生). Research of elevation height on quality of flue-cured tobacco in Nanling region[J]. *Chinese Tobacco Science* (中国烟草科学), 1997, (4):8—12(in Chinese).
- [7] HU Y C(胡元才), YU Y CH(余永超). Research of relationship between aroma and flue-cured tobacco yield and quality[J]. *Guizhou Agricultural Sciences* (贵州农业科学), 1995, **41**(5):36—39(in Chinese).
- [8] JIAN Y X(简永兴), YANG L(杨磊), XIE L J(谢龙杰). Effects of altitude on petroleum ether extract and routine chemical composi-

- tions in flue-cured tobacco[J]. *Tobacco Science & Technology*(烟草科技), 2005, (7): 3—6(in Chinese).
- [9] CAO X H(曹学鸿), SHEN G M(申国明), WANG Y(王 永). Study on relationships between altitude and chemical constituents in leaves of tobacco in Enshi tobacco-growing areas[J]. *Chinese Tobacco Science*(中国烟草科学), 2011, **32**(A01): 21—24(in Chinese).
- [10] ZHEN C H(甄才宏), LIU G SH(刘国顺), WANG Y T(王彦亭). Effects of altitudes on contents of aroma components of flue-cured tobacco in Enshi prefecture[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*(河南农业科学), 2010, (3): 49—53(in Chinese).
- [11] WEN L Y(文隗英), CHEN T(陈 拓). Changes of pigments in *Sabina przewalskii* and *Picea crassifolia* needles along with different altitudes[J]. *Bulletin of Botany*(植物学报), 2012, **47**(4): 405—412(in Chinese).
- [12] LIANG J P(梁建萍), NIU Y(牛 远), XIE J S(谢敬斯). Antioxidase activities and photosynthetic pigment contents in *Larix principis-rupprechtii* leaves along an altitudinal gradient[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2007, **18**(7): 1 414—1 419(in Chinese).
- [13] ZHANG B(张 波), SHI SH B(师生波), LI H P(李和平). Comparison of photosynthetic pigment contents and antioxidant activity of *anisodus tanguticus* from different leaf layers grown at two altitudes level in Qinghai-Tibet plateau[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报), 2008, **28**(9): 1 778—1 786(in Chinese).
- [14] DING F ZH(丁福章), LI J X(李继新), YUAN Y B(袁有波). Effective isolation of total RNA from tobacco tissues[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报), 2007, **23**(12): 98—101(in Chinese).
- [15] GREGOR W, SCHMIDT SVEN K, *et al.* Stable internal reference genes for normalization of real-time RT-PCR in tobacco (*Nicotiana tabacum*) during development and abiotic stress[J]. *Mol. Genet Genomics*, 2010, **283**(3): 233—241.
- [16] ZHAO E W(赵二卫), XIAO B G(肖炳光), YANG Y X(杨永霞). Study on the regularity of plastid pigment biosynthesis in Yunnan fen-flavor flue-cured tobacco[J]. *Acta Tabacaria Sinica*(中国烟草学报), 2011, **17**(1): 50—53(in Chinese).
- [17] CAO Y L(曹艳玲), WANG X L(王稀玲). Variation of chloroplast pigments of acer ginnala along elevation gradients in Qiliyu, Shanxi [J]. *Journal of Agriculture*(农学学报), 2012, **2**(11): 17—20(in Chinese).
- [18] ZHOU D W(周党卫), ZHU W Y(朱文琰), TENG ZH H(腾中华). Antioxidative compounds of *Polygonum viviparum* L. from different altitudes[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*(应用与环境生物学报), 2003, **9**(5): 489—492(in Chinese).
- [19] HE T(何 涛), WU X M(吴学明), WANG X R(王学仁). Photosynthetic characteristics of leontopodium leontopodioides growing at different altitudes[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报), 2005, **25**(12): 2 519—2 523(in Chinese).
- [20] ZHOU J H(周冀衡), WANG Y(王 勇), SHAO Y(邵 岩). The comparison on the content of chromoplast pigments and volatile aromatic materials of flue-cured tobacco from domestic and abroad[J]. *Journal of Hunan Agricultural University*(Nat. Sci. Edi.)(湖南农业大学学报·自然科学版), 2005, **31**(2): 128—132(in Chinese).
- [21] HAN J F(韩锦峰), LIU W Q(刘卫群), YANG S Q(杨素勤). The effect of tobacco aroma components in different altitudes[J]. *Chinese Tobacco*(中国烟草), 1993, (3): 1—3(in Chinese).
- [22] MA J X(马剑雄), XU X Y(徐兴阳), LUO H Y(罗华元). Susceptibility of flue-cured tobacco of different varieties to altitude[J]. *Tobacco Science & Technology*(烟草科技), 2009, (3): 53—55(in Chinese).

(编辑: 宋亚珍)