

SICHUAN KAOYAN ZHILIANG TEZHENG JIQI SHENGLI SHENGHUA JICHU YANJIU

四川烤烟质量特征 及其生理生化基础研究

鲁黎明 主编

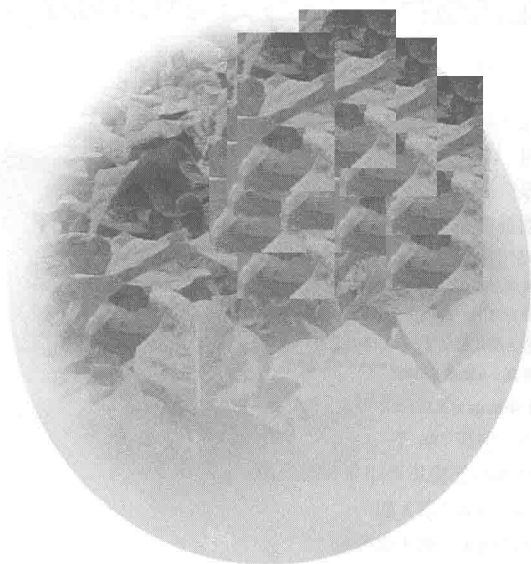


四川科学技术出版社

SICHUAN KAOYAN ZHILIANG TEZHENG
JIQI SHENGLI SHENGHUA JICHU YANJIU

四川烤烟质量特征 及其生理生化基础研究

鲁黎明 主编



四川科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

四川烤烟质量特征及其生理生化基础研究 / 鲁黎明

主编. — 成都: 四川科学技术出版社, 2018.5

ISBN 978-7-5364-9058-1

I. ①四… II. ①鲁… III. ①烤烟叶—研究—四川
IV. ①TS424

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第093412号

四川烤烟质量特征及其生理生化基础研究

主 编 鲁黎明

出 品 人 钱丹凝

责任编辑 何 光

封面设计 张维颖

责任出版 欧晓春

出版发行 四川科学技术出版社

成都市槐树街2号 邮政编码 610031

官方微博: <http://e.weibo.com/sckjchs>

官方微信公众号: sckjchs

传真: 028-87734035

成品尺寸 146mm × 210mm

印 张 8 字数 186 千

印 刷 成都市新都华兴印务有限公司

版 次 2018年6月第1版

印 次 2018年6月第1次印刷

定 价 38.00元

ISBN 978-7-5364-9058-1

邮购: 四川省成都市槐树街2号 邮政编码: 610031

电话: 028-87734035 电子信箱: sckjchs@163.com

■ 版权所有 翻印必究 ■

《四川烤烟质量特征及其生理生化基础研究》

编 委 会

主 编 鲁黎明

副主编 叶科媛、徐文珊、陈勇、刘永建

前 言

烟草是我国的一种重要经济作物，为我国国民经济的发展及农民的增收做出了巨大的贡献。作为卷烟工业的原料，烟草品质的好坏，直接影响到卷烟质量的高低。尤其在中国烟草行业大力发展中式卷烟的今天，改善烟叶的结构，提高烟叶的质量，是保证中式卷烟原料质量、提高中式卷烟市场竞争力的重要前提。

烟叶的质量受许多因素的影响，如生态条件、遗传背景以及栽培和调制措施等等。其中，生态条件是决定性的因素，而品种与栽培和调制措施的协同配合，则可以彰显与确保烟叶的质量风格特色。探讨烟叶品质特色形成的机制，对优质烟叶生产中品种的生态布局、配套栽培和调制技术体系的建立，进而保障中式卷烟优质原料的供给，具有十分重要的意义。

四川省是我国优质烟叶重要的战略生产基地，其总产量位居全国第三名。以攀西地区为代表的清香型烟叶，是许多重点

卷烟工业企业的原料来源，为我国卷烟工业的发展做出了巨大的贡献。四川省幅员辽阔，境内的生态环境条件各异，其出产的烟叶在质量风格特色上，也各有千秋。为了探索四川烟叶品质差异形成的原因，本课题组从香气物质、相关酶活性、基因表达谱以及蛋白质组等方面，开展了烟叶品质形成的机理研究。本书即是从四川的气候与土壤、四川烟叶的质量特征、四川烟叶的香气物质及其相关酶与基因表达、四川烟叶基因表达谱以及蛋白质组学等方面，全面总结了本研究的成果。

在本研究开展过程中，得到了四川省烟草公司、各地市州烟草公司、产区县烟草公司以及基层烟站的大力协助，在此特地表示感谢。同时，本书在撰写过程中，行业相关领导与专家也提出了许多建设性的意见，并给予了中肯的建议，在此一并致谢。

由于编者水平有限，本书在内容上编排、叙述以及结果分析等方面，难免存在许多缺点与不足，望各位尊敬的读者不吝赐教。

编 者

2018年6月

目 录

第一章 四川气候与土壤资源	1
1 四川气候特征	2
1.1 四川盆地的亚热带湿润气候区	2
1.2 川西南山地亚热带半湿润气候区	2
1.3 川西北高山高原高寒气候区	3
2 四川省土壤资源	3
2.1 四川土壤主要类型	3
2.2 四川省土壤养分含量	4
3 四川省烟叶生产	6
3.1 四川省烟叶生产基本情况	6
3.2 川西南烟区	8
3.3 川南烟区	9
3.4 川北广元	10
3.5 白肋烟产区	10
3.6 四川烤烟总体质量	10

第二章 四川烤烟的质量特征·····	12
1 材料与方法 ·····	13
1.1 烟叶样品采集 ·····	13
1.2 质量评价方法 ·····	14
2 结果与分析 ·····	16
2.1 四川烟叶外观质量评价结果 ·····	16
2.2 四川烟叶常规化学成分评价结果 ·····	17
2.3 四川烟叶感官质量评价结果 ·····	19
2.4 四川特色烟叶香气类型研究 ·····	24
第三章 四川烤烟香气物质及其形成的生理生化基础·····	30
1 材料与方法 ·····	31
1.1 试验材料 ·····	31
1.2 试验方法 ·····	32
1.3 数据统计分析 ·····	39
2 结果与分析 ·····	40
2.1 不同生态条件对烤烟生长发育情况的影响 ·····	40
2.2 不同生态条件对烤烟香气物质含量的影响 ·····	44
2.3 不同生态条件对烤烟次生代谢过程中关键酶活性的 影响 ·····	51
2.4 不同生态条件对烤烟次生代谢相关基因表达量的 影响 ·····	55

3 结论与讨论	64
3.1 地区间烤烟萜类物质代谢差异	64
3.2 四川各地区烤烟酚类物质代谢差异	66
3.3 四川各地区烤烟生物碱类物质代谢差异	67
 第四章 四川烤烟基因表达谱分析	72
1 概述	72
1.1 四川烤烟主产区生态条件	72
1.2 四川烤烟主产区烟叶质量	74
2 材料与方法	75
2.1 试验材料	75
2.2 试验方法	76
3 结果与分析	84
3.1 烟草总 RNA 提取与质量检验	84
3.2 烟草基因表达谱芯片数据的有效性	87
3.3 差异表达基因总体特征	92
3.4 差异表达基因功能分类	93
3.5 差异表达基因代谢通路分析	94
3.6 光合作用中差异表达的基因分析	103
3.7 类胡萝卜素代谢途径中差异表达的基因	107
3.8 淀粉和蔗糖代谢途径中差异表达的基因	113
3.9 信号传导途径中差异表达的基因	117

3.10	植物激素代谢途径中差异表达的基因	129
3.11	参与离子跨膜运输过程的差异表达基因	138
3.12	参与形态解剖结构形成的差异表达基因	156
4	讨论	164
4.1	基因芯片技术的可靠性	164
4.2	基因芯片数据的有效性	164
4.3	GO 功能分析	165
4.4	差异表达基因富集的 Pathway 分析	169
5	结论	171
第五章 四川烤烟蛋白质差异表达分析		181
1	概述	181
2	材料和方法	183
2.1	试验材料	183
2.2	试验方法	183
2.3	蛋白单向和双向电泳	186
2.4	凝胶染色及图像扫描采集	188
2.5	凝胶蛋白点检测及差异统计分析	189
2.6	蛋白点胶内酶解及 MALDI-TOF MS 质谱分析	189
2.7	质谱数据库搜索及生物学功能分析	191
3	结果与分析	192
3.1	烟草叶片蛋白的提取与分离	192

3.2	蛋白胶内酶解和 MALDI-TOF/TOF MS 分析	198
3.3	鉴定成功蛋白的功能分析	214
3.4	叶片差异蛋白 Blast2 go 分析	220
4	讨论	231
4.1	烟叶蛋白质组研究技术建立	231
4.2	功能分析	232
5	结论	238

第一章 四川气候与土壤资源

四川省位于中国西南腹地，介于东经 $97^{\circ} 21'$ ~ $108^{\circ} 33'$ 和北纬 $26^{\circ} 03'$ ~ $34^{\circ} 19'$ ，地处长江上游，辖区面积 48.6 万 km^2 ，居中国第五位，东西长 1 075km，南北宽 921km，东西边境时差 51min。四川省与七个省（区、市）接壤，北连陕西、甘肃、青海，南接云南、贵州，东邻重庆，西衔西藏。四川是西南、西北和中部地区的重要接合部，是承接华南、华中，连接西南、西北，沟通中亚、南亚、东南亚的重要交汇点和交通走廊。

四川位于中国大陆地势三大阶梯中的第一级和第二级，即处于第一级青藏高原和第二级长江中下游平原的过渡带，高低悬殊，西高东低的特点特别明显。西部为高原、山地，海拔多在 3 000m 以上；东部为盆地、丘陵，海拔多在 500 ~ 2 000m。全省可分为四川盆地、川西高山高原区、川西北丘状高原山地区、川西南山地区、米仓山大巴山中山区五大部分。

四川地貌复杂，以山地为主要特色，具有山地、丘陵、平原和高原 4 种地貌类型，分别占全省面积的 74.2%、10.3%、8.2%、7.3%。土壤类型丰富，共有 25 个土类、63 个亚类、137 个土属、380 个土种，土类和亚类数分别占全国总数的 43.48% 和 32.60%。

1 四川气候特征

四川省幅员广阔,地貌复杂,因此,造成了区域内气候的多样性。四川气候特点总的表现为:

第一,区域差异显著,东部冬暖、春早、夏热、秋雨、多云雾、少日照、生长季长;西部则寒冷、冬长、基本无夏、日照充足、降水集中、干雨季分明。

第二,气候垂直变化大,气候类型多,有利于农、林、牧综合发展。

第三,气象灾害种类多,发生频率高、范围大,主要是干旱,暴雨、洪涝和低温等也经常发生。

四川省的总体气候,可以分为三个类型区,即四川盆地的亚热带湿润气候区、川西南山地亚热带半湿润气候区,以及川西北高山高原高寒气候区。

1.1 四川盆地的亚热带湿润气候区

该区即四川盆地及周围山地。全年温暖湿润,年均温 $16\sim 18^{\circ}\text{C}$,日温 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 的持续期为 $240\sim 280\text{d}$,积温达到 $4\,000\sim 6\,000^{\circ}\text{C}$,气温日较差小,年较差大,冬暖夏热,无霜期 $230\sim 340\text{d}$ 。盆地云量多,晴天少,2013年日照时间较短,仅为 $1\,000\sim 1\,400\text{h}$,比同纬度的长江流域下游地区少 $600\sim 800\text{h}$ 。雨量充沛,年降水量达 $1\,000\sim 1\,200\text{mm}$ 。

1.2 川西南山地亚热带半湿润气候区

该区2013年气温较高,年均温 $12\sim 20^{\circ}\text{C}$,年较差小,日较差大,早寒午暖,四季不明显,但干湿季分明。降水量较少,2013年有7个月为旱季,年降水量 $900\sim 1\,200\text{mm}$,90%集中在 $5\sim 10$ 月。云量少,晴天多,日照时间长,年日照多为 $2\,000\sim 2\,600\text{h}$ 。其河谷地区形成典型的干热河谷气候,山地形成显著的立体气候。

1.3 川西北高山高原高寒气候区

该区海拔高差大,气候立体变化明显,从河谷到山脊依次出现亚热带、暖温带、中温带、寒温带、亚寒带、寒带和永冻带。总体上以寒温带气候为主,河谷干暖,山地冷湿,冬寒夏凉,水热不足,年均温 $4 \sim 12^{\circ}\text{C}$,年降水量 $500 \sim 900\text{mm}$ 。天气晴朗,日照充足,年日照 $1600 \sim 2600\text{h}$ 。

2 四川省土壤资源

2.1 四川土壤主要类型

2.1.1 红壤

四川省的红壤主要分布在凉山彝族自治州、攀枝花、雅安、甘孜藏族自治州等地。该地域的气候为中亚热带气候,其自然植被为偏干性常绿阔叶林。该区域的地形为低中山及其山间台地与高阶地,成土母质以残坡积物为主,常见有砂页岩、玄武岩、花岗岩等。

在土壤理化性质方面,土壤盐基饱和度低,呈酸性至微酸性红壤。腐殖质以富里酸占优势,并以铁结合的腐殖质为主。红壤有机质以氮素含量较高,速效钾丰富,磷素缺乏。

2.1.2 黄壤

四川省的黄壤主要分布在四川东部盆地及其四周的中低山区。区域气候为中亚热带气候,其自然植被多为喜湿性常绿阔叶林。该区域地形为低山及丘陵,成土母质为各种风化物。

在黄壤的土壤理化性质方面,一般质地较重,土壤盐基饱和度低,呈酸性至强酸性。黄壤腐殖质以富里酸占优势,并以铁结合的腐殖质为主。黄壤矿质养分含量较低,尤其缺磷。同时,黄壤通气性差,表现出板结、紧实、冷凉的特点。

2.1.3 黄棕壤

四川省的黄棕壤主要分布在盆边山地、川西南山地。区域气候为北亚热带湿润气候，其自然植被为常绿阔叶林与落叶阔叶林的混交林。该区域的地形为山地，其成土母质为各地质时期的风化残坡积物。

土壤理化性质：一般质地黏重，为重壤土。有机质含量高，腐殖质组成以富里酸为主，呈酸性，盐基不饱和。氮素含量高，磷含量中等，全钾及速效钾含量较高，供钾性能好。

2.1.4 紫色土（非地带性土壤）

紫色土在全省除阿坝藏族羌族自治州外都有分布。该区域的气候为中亚热带湿润气候，夏季高温多雨，冬春温凉少雨。该区域地形为低山、丘陵，成土母质为各种紫色岩风化的残积物、坡积物。

土壤理化性质：砂粒含量高，且一般土壤中均有石砾。有机质含量偏低，盐基饱和度高，磷、钾含量丰富，氮素含量低。

按照 pH 值的高低，紫色土又可以分为酸性紫色土（pH 值 <6.5）、中性紫色土（pH 值 6.5 ~ 7.5）及石灰性紫色土（pH 值 >7.5）。

2.2 四川省土壤养分含量

根据许宗林等^[1]的研究，四川省土壤总体肥力水平中等，其中，土壤有机质含量中等；全量氮、磷、钾属中偏上；土壤碱解氮含量较高，有效磷含量中等，土壤速效钾普遍缺乏；土壤有效铁、铜含量较高；有效锌、锰含量中等，有效硼、钼普遍缺乏（表 1-1）。

具体而言，四川省耕层土壤有机质含量平均为 21.4 g/kg，属中等水平，其变化范围在 1.6~58.5g/kg。土壤有机质含量，主要集中在 10.1 ~ 30.0 g/kg 范围，占全部土壤的 68.46%。全氮含量

变化范围为0.06 ~ 3.70 g/kg, 平均为1.39 g/kg, 属于中等偏上水平, 且主要集中在1.00 ~ 2.00 g/kg, 占全部土壤的62.26%。全磷含量变化范围为0.22 ~ 1.82 g/kg, 平均为0.82 g/kg, 属中等偏上水平。全省土壤全磷含量主要集中在0.60 ~ 1.00 g/kg, 占全部土壤的51.11%。土壤全钾含量变化范围为7.5 ~ 26.1 g/kg, 平均为18.1 g/kg, 属中等偏上的水平。四川省全钾含量主要集中在15.1 ~ 25.0g/kg, 占到全部土壤的88.05%。

表 1-1 四川省土壤养分现状

项 目		平均值	最小值	最大值	样本数
土壤全量 (g/kg)	有机质	21.4	1.6	58.5	3 183
	全氮	1.39	0.06	3.7	3 183
	全磷	0.82	0.22	1.82	2 049
	全钾	18.1	7.5	26.1	2 049
土壤速效养分 (mg/kg)	碱解氮	144	29	591	2 200
	有效磷	15.1	0.1	297	2 049
	速效钾	71	10	393	2 049
土壤微量元素 (mg/kg)	有效铜	2.81	0.08	42.2	1 627
	有效锌	1.41	0.26	8.38	1 627
	有效铁	82.1	2.00	448	1 627
	有效锰	18.68	0.16	162	1 627
	有效硼	0.25	0.04	2.24	1 627
	有效铝	0.14	0.01	1.07	1 778

注：引自许宗林等（2008）。

在土壤速效养分含量方面，土壤碱解氮含量变幅为29 ~ 591 mg/kg, 平均为144 mg/kg, 总体而言含量较高。其

中,含量大于 150 mg/kg 的土壤占到了 40.09%, 60~120 mg/kg 的土壤占 40.33%。土壤有效磷含量变化范围为 0.1 ~ 297.0 mg/kg, 变幅较大, 平均为 15.1mg/kg, 属中等水平。其中, 含量在 10 ~ 40 mg/kg 的土壤占 45.81%, 但全川范围内仍有 49.36% 的土壤缺磷, 其有效磷含量小于 5 mg/kg。其中的原因可能与四川土壤富含钙和铁、铝有关。土壤速效钾含量为 10 ~ 393 mg/kg, 平均为 71mg/kg。全省速效钾含量小于 100mg/kg 的土壤占到了 84.06%, 土壤普遍缺钾。

在土壤微量元素含量方面, 土壤有效铜变幅为 0.08 ~ 42.20mg/kg, 平均 2.81 mg/kg, 含量丰富。其中, 含量大于 1.08 mg/kg 的土壤样品占到了 54.03%。土壤有效锌含量变化范围为 0.26 ~ 8.38 mg/kg, 平均为 1.41 mg/kg, 属中偏上水平, 土壤的有效锌含量低于和高于 1.00 mg/kg 的土壤各占一半左右。土壤有效铁含量变幅为 2.0 ~ 448.0mg/kg, 平均为 82.1 mg/kg, 变化幅度较大, 含量相对较高, 有 58.67% 的土壤样品的有效铁含量 >20.0 mg/kg。土壤有效锰含量变幅较大, 为 0.16 ~ 162.00 mg/kg, 平均为 18.68 mg/kg, 含量为 5.1 ~ 15.0mg/kg 的土壤占 63.79%。土壤有效硼含量变幅为 0.04 ~ 2.24 mg/kg, 平均为 0.25mg/kg, 含量属中等偏下水平。总体而言, 四川省土壤普遍严重缺硼, 全省土壤有效硼含量均较低, 且含量小于 0.50 mg/kg 的土壤有效硼占到了 98.39%。土壤有效钼含量的变化范围为 0.01 ~ 1.07 mg/kg, 平均为 0.14 mg/kg, 有效钼含量小于 0.15mg/kg 的土壤占到了 74.74%, 属于缺乏范围。

3 四川省烟叶生产

3.1 四川省烟叶生产基本情况

四川省处于亚热带地理位置, 但由于受大气环流、地貌轮