

烤烟烟叶卷曲症状的诊断及其机理研究*

组织分析和水培试验

秦 华¹ 程 森² 吴家森¹ 王 平² 杨 芳¹ 张伟峰²
尹 睿¹ 唐 宇² 林先贵¹ 曹志洪^{1†}

(1 中国科学院南京土壤研究所-浙江林学院“森林土壤与环境联合实验室”,浙江林学院,浙江临安 311300)

(2 上海烟草(集团)公司,上海 200082)

摘 要 对基地不同程度缺钙症状的烤烟植株的组织分析结果表明,烟株叶片反转卷曲的畸形症状的程度与叶片内钙含量呈反相关,而与烟叶内硫酸根离子和磷的含量呈正相关。基地新垦红壤中只是因为使用商品有机肥 1 号才有大量的硫酸根和磷酸根可供烟株吸收。水培试验结果证明,高浓度的磷酸根离子能够诱导烟株缺钙的症状,营养液中钙浓度越低,磷酸根浓度越高,诱发的烟叶缺钙的症状出现时间越早,程度越严重。从而证明基地出现的因施用商品有机肥 1 号而诱导烤烟缺钙症状的机理确是由于该有机肥所含的大量磷酸根、硫酸根等阴离子与根际土壤中的钙形成溶解度更低的硫酸钙盐或磷酸盐的沉淀,因此阻碍了 Ca^{2+} 的吸收,以及烟株大量吸收磷酸根和硫酸根导致体内钙的转运和再利用困难所致的。

关键词 烤烟;缺钙;磷酸根;硫酸根;水培试验

中图分类号 S153 **文献标识码** A

烤烟是我国重要的经济作物,2006 年全国种植烤烟的面积达 114.5 万 hm^2 ,总产量为 2 163 t,分布在全国 23 个省市,是 1 亿多烟农的主要经济来源;但是吸烟对身体健康有害,在卷烟没有完全退出部分人群的生活之前,提质降害是卷烟工业和科研工作者的主要任务^[1]。烤烟是卷烟工业的主要原料,卷烟的提质降害必须从田间抓起。上海烟草(集团)公司在我国西南烟区开辟了新的烟草基地,为了提高烟叶质量和降低烟叶可能携带的有害物质,该公司与中国科学院南京土壤研究所和浙江林学院的“森林土壤与环境联合实验室”合作,对基地的生态环境条件与烟叶产量、质量的关系进行了研究。2005 年和 2006 年连续两年在该基地发现了一种奇特的烟叶卷曲症状,程森等^[1]报道了该症状的发现过程、初步诊断及机理的科学假设,认为该症状是使用商品有机肥 1 号诱发的生理缺钙引起的^[1]。

营养胁迫对烤烟的生育以及烟叶的品质都可产生不良的影响。磷和硫是烤烟生长发育的必需营养元素,但是如果磷素或硫素的供应过量导致奢侈吸收,也会影响烤烟的生长,例如导致烟株的鲜重、干重下降,

烟草品质受到影响,烟叶产量和产值明显下降^[2,3]。

钙是烟株中的主要成分之一,是细胞膜的一种保护剂,与细胞膜的完整性关系密切,在维持双层基本结构和控制膜透性方面起着重要作用,并能降低细胞的渗透势^[4],钙也与植物体内的一些酶系统的活性有联系^[5]。另据报道,在烟株的生长过程中,钙在烟叶中表现出明显的积累效应^[5],烟株严重缺钙不仅会影响其生长发育,还可以出现“倒勺子状”翻转卷曲的症状^[6~8]。2005 年和 2006 年基地大面积烟叶呈“倒勺子状”翻转卷曲的症状假设是商品有机肥 1 号高浓度的硫酸根和磷酸根诱导的生理缺钙症状^[1],本研究试图通过对田间叶片呈不同程度畸形烟株的组织分析,以及水培试验来证明“倒勺子状”翻转卷曲的症状确是缺钙所致,而且这种缺钙是高浓度的硫酸根、磷酸根离子所诱导的。

1 材料与方 法

1.1 田间叶片不同程度畸形的烟株组织分析

从烟草植株叶片正常、轻微卷曲以及严重卷曲

* 上海烟草(集团)公司技术中心技术开发项目(编号 05-522)资助

† 通讯作者, E-mail: zhcao @issas. ac. cn

作者简介:秦 华(1981~),男,助教,中国科学院南京土壤研究所获硕士学位,现在浙江林学院从事土壤质量与环境微生物学的教育与研究

收稿日期:2007-03-02;收到修改稿日期:2007-06-07

的田块中随机选取5株,植株样品用自来水冲洗干净,再用去离子水冲洗后,将根、茎、叶分开装入牛皮纸信封内,70℃烘48h。烘干的植物样品粉碎,过80目筛,供植株分析之用。

1.2 水培试验

采用1000mL塑料烧杯,四周刷上黑油漆使之不透光。完全营养液水培配方^[9]: NH_4NO_3 57.1 mg L^{-1} , KH_2PO_4 38.3 mg L^{-1} , KCl 42.4 mg L^{-1} , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 117 mg L^{-1} , MgSO_4 119.4 mg L^{-1} , H_3BO_3 2.9 mg L^{-1} , CuSO_4 0.05 mg L^{-1} , MnCl_2 1.14 mg L^{-1} , Na_2MoO_4 0.11 mg L^{-1} , ZnSO_4 0.12 mg L^{-1} , Fe-EDTA 1 mg L^{-1} , pH 5.5~6.0。供试烟草品种为云烟85。

盆栽试验设置了3个处理:完全营养液中含Ca 0、60和120 mg L^{-1} 3个水平;在每个Ca水平下,再分别设置含 PO_4^{3-} 0、100、500、1000 mg L^{-1} 4个水平,每个处理3次重复,一共36盆。烟苗长至4~5片真叶后移栽,每盆种植烟苗1株,盆钵随机排列于日光温室,常规培养。用称重法,试验开始时每3d加入失去的水分,2周后每2d加入失去的水分,并随机交换各盆的位置,保持各处理的水分、阳光和空气等条件一致。

1.3 分析方法

植株钙含量采用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 消煮—EDTA络合

滴定法测定;植株钾含量采用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮—火焰光度计法测定;植株磷含量的测定采用钼锑抗比色法^[10];植株和有机肥的 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 含量用热去离子水浸提—离子色谱法测定^[11]。

土壤有效钙含量采用醋酸铵浸提法—原子吸收分光光度法测定;土壤全钙含量、有机肥重金属含量采用硝酸—氢氟酸—高氯酸消煮—原子吸收分光光度法测定^[10]。

1.4 数据处理

用SPSS10.0软件处理试验数据,Duncan单因素方差分析比较各处理之间的差异显著性($p < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 田间烟株分析结果

2.1.1 烟草植株各部分的钙含量 对基地所采的正常生长、叶片轻微卷曲以及叶片严重卷曲的三种烟草植株样品分别测定根、茎、叶中的Ca元素含量,以明确卷叶的轻重程度与钙含量的相关关系。结果如图1所示。

结果表明,烟草茎和叶中的钙含量,正常烟株>轻微卷曲烟株>严重卷曲烟株,且其差异均达到显

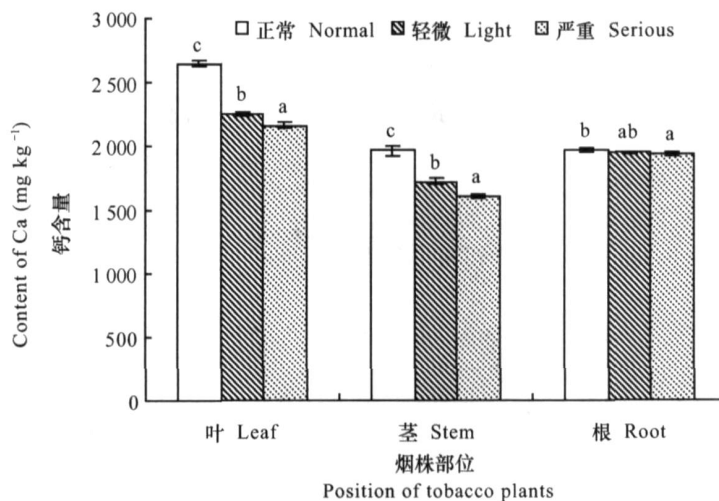


图1 叶片卷曲程度不同的烟草植株钙含量

Fig. 1 Ca contents in different parts of tobacco plants different in coil degree of leaves

著性水平($p < 0.05$)。从植株根系的钙含量可以看出,严重卷曲的烟草植株也显著低于正常植株。这表明烟叶的卷曲程度与烟株体内钙含量是呈反相关的,因此可以判断,烟叶的“倒勺子状”畸形症状是缺钙所导致的。

2.1.2 烟草植株中硫酸根离子和磷的含量 烟草生长过程中所施用的肥料会对烟草植株中各种成分的含量产生很大的影响,由于商品有机肥1号含有很高浓度的硫酸根和磷酸根等阴离子,也应该会反映在不同程度症状的烟株的组织分析结果中。

图 2 是发生不同程度症状的烟草不同部位中的硫酸根离子含量。结果表明, 烟株各部位的硫酸根的含量为烟叶 \gg 茎部 $>$ 或 $=$ 根部。在烟叶中, 其硫酸根含量则是严重卷曲烟株 $>$ 轻微卷曲烟株 $>$ 正常烟株, 且其差异均达到显著性水平 ($p < 0.05$)。在烟

草的根和茎部中, 严重卷曲的烟株其硫酸根离子含量也显著高于正常烟株 ($p < 0.05$)。可见, 症状越重的烟株其叶片中硫酸根的含量越高。因此, 本研究推断是由于高含量的硫酸根离子使烟株体内钙的代谢转化、运输和再利用受阻。

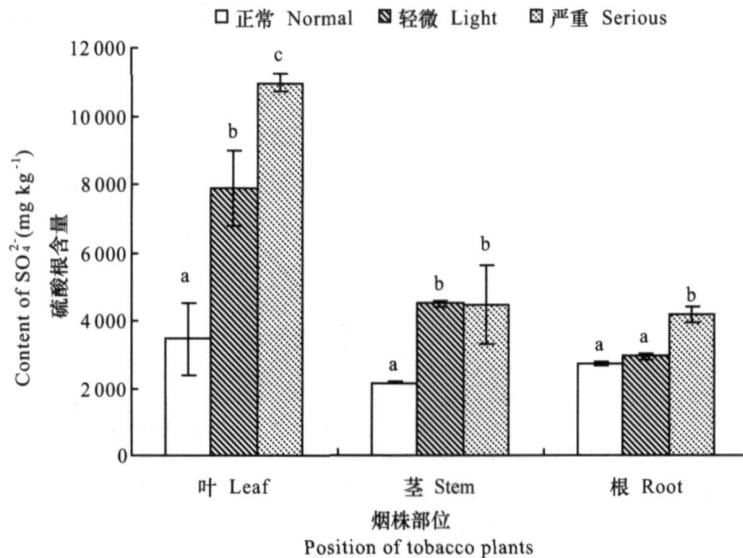


图 2 叶片卷曲程度不同的烟草植株硫酸根离子含量

Fig. 2 SO₄²⁻ contents in different parts of tobacco plants different in coil degrees of leaves

图 3 是不同程度症状的烟株中不同部位的磷含量。结果表明, 严重卷曲的烟株中各部位的磷含量都非常高, 无论是根、茎, 还是叶的磷含量均显著地高于正常及轻微卷曲的烟草植株各部位的磷含量 ($p < 0.05$)。轻微卷曲烟株的根和茎部的磷含量与

正常植株相比, 两者没有显著差异, 而叶片的磷含量则是轻微卷曲的烟株显著高于正常的烟株 ($p < 0.05$)。可见, 磷的含量越高, 烟草叶片的卷曲症状越严重, 这可能是由于烟草植株体内高浓度的磷酸根干扰了钙在体内的代谢运输和转化利用。

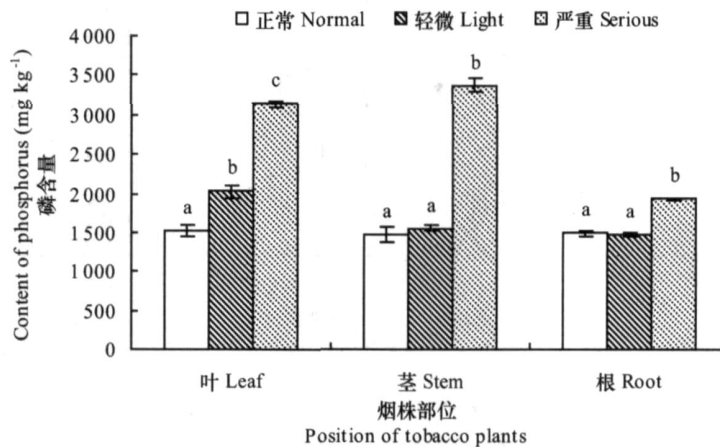


图 3 叶片卷曲程度不同的烟草植株磷含量

Fig. 3 P contents in different parts of tobacco plants different in coil degrees of leaves

由此, 可以初步判断, 基地上烟株叶片出现“倒勺子状”翻卷的症状是使用商品有机肥 1 号所诱发

的缺钙症状, 其机理是: (1) 新垦红壤中钙 (1.66 g kg^{-1}) 的供应虽然较低, 但仍能满足烟草的生长需

要,如果不使用商品有机肥则可以维持正常生长;(2)使用商品有机肥 1 号的烟草,由于提供了大量的硫酸根和磷酸根,可与烟株根际土壤中的有效钙反应形成磷酸钙沉淀或溶解度较低的硫酸钙,导致根际土壤钙素不足而诱发缺钙^[1];(3)同时,烟草植株吸收了过量的 SO_4^{2-} 和 PO_4^{3-} 可以阻滞 Ca^{2+} 在烟株体内的转化运输和再利用,从而加剧缺钙症状^[12]。(4)“倒勺子状”翻卷的缺钙症状首先出现在幼叶上,因为钙是作物体内最不易移动的大量元素;吸收了过量磷酸根、硫酸根的烟株加剧了钙在体内转运的困难,使叶片缺钙症状越趋严重。

2.2 水培试验结果

在不同的钙营养条件下加入不同浓度的磷酸

根处理的烟株,先后出现不同程度的缺钙症状(图 4、图 5、图 6)。其中,无钙营养液培养的烟株最早出现叶片向下翻转卷曲的缺钙症状,且生长矮小,下部叶片枯黄衰老,与基地烟叶卷曲症状一致,属于严重的缺钙症状(图 4)。无钙营养液各个处理中,虽然烟叶都有缺钙症状出现,但缺钙症状随着磷酸根离子浓度的增加而加重,即:CK(图 4a) < 低浓度的(PO_4^{3-} 100 mg L^{-1})处理(图 4b) < 中浓度(PO_4^{3-} 500 mg L^{-1})处理(图 4c) < 高浓度(PO_4^{3-} $1\,000 \text{ mg L}^{-1}$)处理(图 4d)。结果说明,磷酸根离子吸收越多,对烟株体内本身存在的少量钙运转的抑制作用越严重,从而加剧了烟株的缺钙症状。

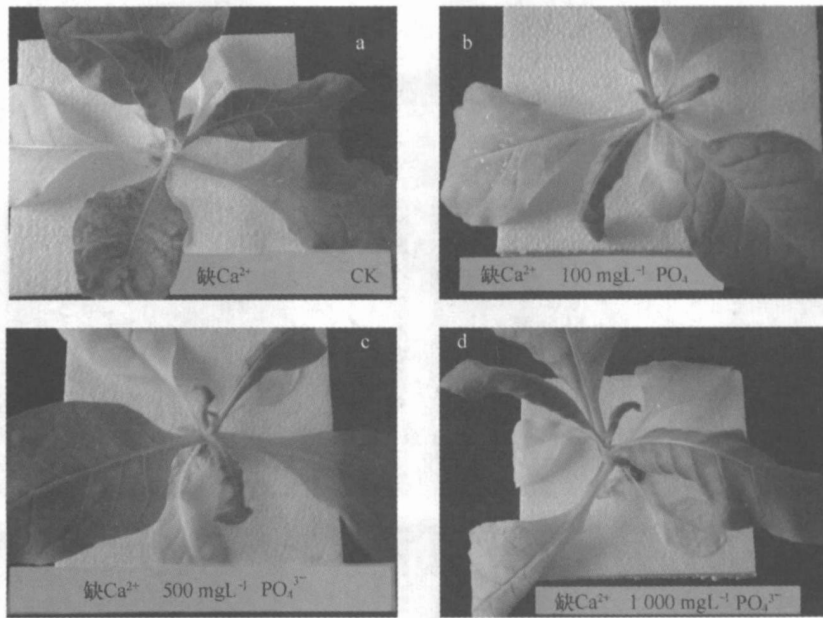


图 4 全缺钙 (Ca^{2+} 0 mg L^{-1}) 营养液和不同磷酸根浓度处理的烟株缺钙症状

Fig. 4 Ca^{2+} deficiency symptoms of tobacco plants in nutrient solutions free of Ca^{2+} and different in PO_4^{3-} concentration

钙离子浓度为正常营养液的 1/2 时 (Ca^{2+} 60 mg L^{-1}),不加磷酸根的对照,烟草能正常生长(图 5a),说明该浓度的钙已能满足烟株对钙营养的需求。但加有磷酸根处理的烟草植株,则都先后出现了叶片卷曲的缺钙症状(图 5b、图 5c、图 5d),其中高浓度磷酸根处理的烟株烟叶卷曲症状最严重,出现症状的时间也最早(图 5d);中等浓度磷酸根处理的烟株,叶片出现较严重的卷曲,出现症状的时间较高浓度磷酸根处理的迟 2 d(图 5c);低浓度磷酸根处理的烟叶仅轻微卷曲,出现时间较中浓度磷酸根处

理的迟 1d(图 5b)。

在正常的钙营养液条件下 (Ca^{2+} 120 mg L^{-1}),对照(不加磷酸根)和低浓度的磷酸根处理,对烟草没有任何影响(图 6a、图 6b),生长正常,烟叶健康,叶色油绿。说明钙供给充足的营养液中添加低浓度磷酸根对烟株的生长无不良影响。添加中浓度磷酸根处理的,仅心叶有轻微的卷曲症状(图 6c);而添加高浓度磷酸根时,心叶和老叶均出现了明显的卷曲症状,而且叶色浅淡,说明出现了比较严重的缺钙症状(图 6d)。

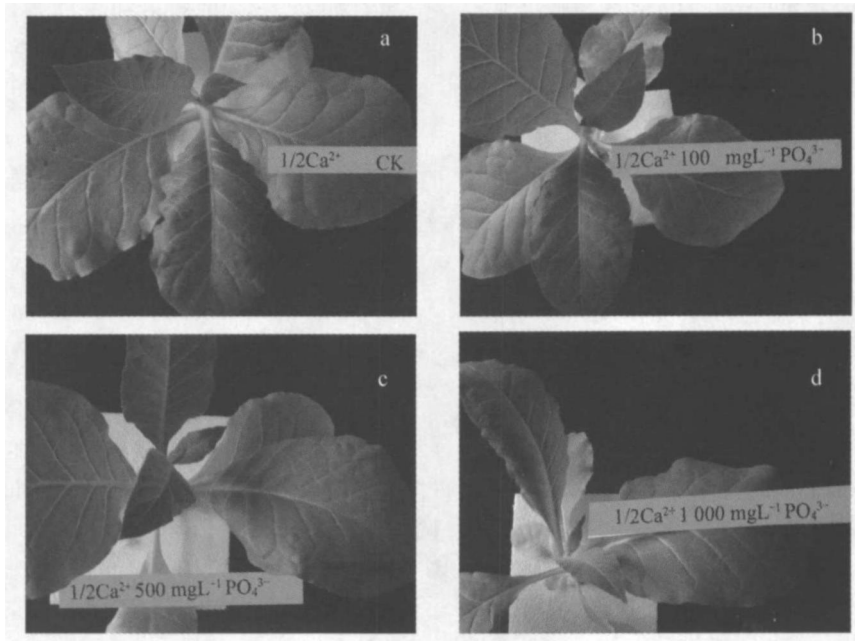


图 5 半缺钙 (Ca^{2+} 60 mg L^{-1}) 和不同磷酸根浓度处理的烟株缺钙症状

Fig. 5 Ca^{2+} deficiency symptoms of tobacco plants grown in nutrient solutions of 60 mg L^{-1} in Ca^{2+} varied with PO_4^{3-} concentration

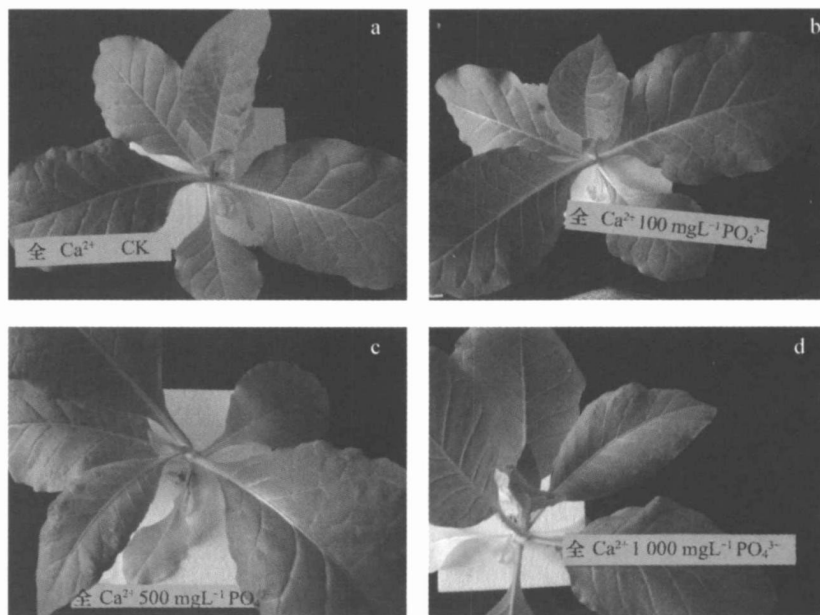


图 6 钙充足 (Ca^{2+} 120 mg L^{-1}) 和不同磷酸根浓度处理的烟株缺钙症状

Fig. 6 Ca^{2+} deficiency symptoms of tobacco plants grown in nutrient solutions of 120 mg L^{-1} in Ca^{2+} varied with PO_4^{3-} concentration

水培条件下的烟草叶片卷曲症状与基地大田烟株叶片的“倒勺子状”卷曲症状基本一样。 Ca^{2+} 60 mg L^{-1} 营养液条件下不加磷酸根处理的烟株生长正常。在无钙、 Ca^{2+} 60 mg L^{-1} 和 Ca^{2+} 120 mg L^{-1} 营养液下,烟株叶片卷曲程度随培养液中钙浓度的增加而减轻,出现时间推迟;但都随培养液中磷酸根浓度

增加而加剧,出现时间也相应提前。说明烟叶出现的“倒勺子状”卷曲症状是缺钙引起的,而过量磷酸根的加入导致了营养液中钙的有效性降低,进一步诱发和加强了烟株的生理缺钙症状。全钙营养液条件下高浓度磷酸根处理的烟叶其心叶和老叶均有不同程度的卷曲症状,说明虽然钙供应不成问题,但过

量磷酸根的吸收可以引起烟株体内钙的运转和再利用受阻^[6],也可导致轻微的缺钙症状。

3 结 论

1)对基地烟叶呈不同卷曲程度烟株的组织分析结果表明,大田中烟株叶片卷曲程度随烟株的叶、茎、根部钙含量的提高而减轻,随硫酸根离子和磷含量的增大而加剧。基地使用的商品有机肥 1 号为烟株提供的大量、奢侈吸收的硫酸根和磷酸根是烟株缺钙的诱因。

2)水培试验结果证明,烟叶卷曲的程度也是随培养液中钙浓度的提高而减轻,并随培养液中磷酸根浓度的增大而加剧。

3)对基地叶片不同卷曲程度的烟株的组织分析和水培试验的结果均表明,基地出现的烤烟叶片严重缺钙症状的机理是:所用的商品有机肥中含有大量磷酸根、硫酸根等阴离子,与根际土壤中的钙形成溶解度较低的硫酸钙和磷酸钙沉淀,使有效钙(239.7 mg kg⁻¹)较少的新垦红壤的钙供应更趋紧缺;而且烟株过量吸收磷酸根和硫酸根后抑制了钙在烟株体内的转化运输和再利用,从而加剧了烟株的生理缺钙症状。

参 考 文 献

- [1] 程森,吴家森,王平,等. 烤烟烟叶卷曲症状的诊断及其机理的研究 I. 症状的发现、初步诊断及机理假设. 土壤学报, 2007, 44(5) (印刷中). Cheng S, Wu J S, Wang P, *et al.* Study on diagnosis and mechanisms of marginal curled down symptom on flue-cured tobacco leaves I. Discovery, diagnosis and hypothesis of the mechanisms (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44(5) (in press)
- [2] 汪邓民,周冀衡,朱显灵,等. 磷钙锌对烟草生长、抗逆性保护酶及渗透物的影响. 土壤, 2000, 34~37. Wang D M, Zhou J H, Zhu X L, *et al.* The effects of P, Ca, Zn ion on flue-cured tobacco growth and resistance (In Chinese). *Soils*, 2000, 34~37
- [3] 刘勤,曹志洪. 烟草硫素营养与烟叶品质研究进展. 土壤, 1998, (6): 320~323. Liu Q, Cao Z H. Advances in sulphur nutrition and leaf quality of flue-cured tobacco (In Chinese). *Soils*, 1998, (6): 320~323
- [4] 刘勤,张新,赖辉比,等. 土壤烤烟系统硫素营养研究. 土壤硫素营养状况及对烤烟生长发育的影响. 中国烟草科学, 2004, (4): 20~22. Liu Q, Zhang X, Lai H B, *et al.* On the sulphur nutrition of soil and flue-cured tobacco. Sulphur nutrition of soil and its effects on growth and development of flue-cured tobacco (In Chinese). *Chinese Tobacco Science*, 2004, (4): 20~22
- [5] 汪邓民,周冀衡,朱显灵,等. K、Ca、Zn 离子对烤烟种子萌发及幼苗抗旱性的影响. 中国烟草科学, 1998, (1): 14~18. Wang D M, Zhou J H, Zhu X L, *et al.* The effects of K, Ca, Zn ion on seed germination of different flue-cured tobacco genotypes and seedling drought resistance (In Chinese). *Chinese Tobacco Science*, 1998, (1): 14~18
- [6] 曹志洪主编. 烤烟营养及失调症状图谱. 南京:江苏科学技术出版社, 1993. 15. Cao Z H. ed. *Plant Nutrition and Disorder Symptom of Flue-cured Tobacco* (In Chinese). Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1993. 15
- [7] 张晓林,和丽忠,陈锦玉,等. 土壤-烤烟矿物质营养元素相互关系的主组分分析. 土壤学报, 2001, 38(2): 193~203. Zhang X L, He L Z, Chen J Y, *et al.* Relationship between mineral nutrient elements of soil and flue-cured tobacco (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2001, 38(2): 193~203
- [8] Chapman H D. *Diagnostic Criteria for Plants and Soils*. Texas: Quality Printing Company Inc., 1973
- [9] 刘芷宇,李良谟,施卫明. 根际研究法. 南京:江苏科学技术出版社, 1992. Liu Z Y, Li L M, Shi W M. *Research Methods in Rhizosphere* (In Chinese). Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1992
- [10] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京:中国农业科技出版社, 2000. Lu R K. *Analytical Methods of Soil and Agro-chemistry* (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000
- [11] 王辉. 离子色谱法测定玉米粉中氯含量. 现代科学仪器, 2006, (1): 94. Wang H. Determination of chloride in corn by suppressed anion exchange chromatography (In Chinese). *Modern Scientific Instruments*, 2006, (1): 94
- [12] 何念祖,孟赐福. 植物营养原理. 上海:上海科学技术出版社, 1987. 197~198. He N Z, Meng C F. *Principle of Plant Nutrition* (In Chinese). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1987. 197~198

STUDY ON DIAGNOSIS AND MECHANISMS OF LEAVE MARGINAL CURL ED DOWN
SYMPTOM ON FLUE-CURED TOBACCO
. TISSUE ANALYSIS AND HYDROPONICS EXPERIMENT

Qin Hua¹ Cheng Sen² Wu Jiasen¹ Wang Ping² Yang Fang¹ Zhang Weifeng²
Yin Rui¹ Tang Yu² Lin Xiangui¹ Cao Zhihong^{1†}

(1 Forest Soil and Environmental Laboratory Jointly Operated by Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences and
Zhejiang Forestry University, Lin 'an, Zhejiang 311300, China)

(2 Shanghai Tobacco (Group) Company, NTCC, Shanghai 200082, China)

Abstract Tissue analysis of flue-cured tobacco plants with different degrees of calcium deficiency sampled from the tobacco production base located in Southwest China show that the symptom of calcium deficiency on tobacco plants was mitigated with increasing Ca concentration in the leaves, but aggravated with increasing SO_4^{2-} and PO_4^{3-} concentrations in the leaves. Results of the hydroponic experiment indicated that high PO_4^{3-} concentration in the solution could induce symptom of calcium deficiency on tobacco plants. The greater the PO_4^{3-} concentration in the solution, the earlier the occurrence of the symptom, and the more serious the symptom. These findings revealed that serious calcium deficiency of tobacco plants in the production base resulted from application of the commercial organic manure containing high concentrations of SO_4^{2-} and PO_4^{3-} , which reduced solubility of Ca in the rhizosphere, thus hindering uptake and transport of Ca^{2+} by the plants.

Key words Flue-cured tobacco; Ca deficiency; Phosphate; Sulfate; Hydroponics culture