

向欢, 王俊, 陈勇, 等. 光照对晒烟变黄期叶绿素荧光及抗氧化指标的影响 [J]. 中国烟草学报, 2020, 26 (4). XIANG Huan, WANG Jun, CHEN Yong, et al. Effects of light on chlorophyll fluorescence and antioxidant indexes of sun-cured tobacco leaves during yellowing period [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2020, 26(4). doi: 10.16472/j.chinatobacco.2019.351

## 光照对晒烟变黄期叶绿素荧光及抗氧化指标的影响

向欢<sup>1,2</sup>, 王俊<sup>2</sup>, 陈勇<sup>2</sup>, 汤卫荣<sup>1</sup>, 张凡<sup>1</sup>, 刘雷<sup>1</sup>

1 四川农业大学农学院, 成都市温江区惠民路211号 611130;

2 四川省烟草公司德阳市公司, 德阳市长江东路176号 618400

**摘要:** 【目的】揭示调制变黄期的光照对晒烟叶绿素荧光及抗氧化指标的影响。【方法】动态测定了晒烟叶调制变黄期内光照处理与遮光处理(CK)下烟叶叶绿素含量、叶绿素荧光、 $H_2O_2$  和 MDA 含量及抗氧化酶的活力。【结果】①光照处理下叶绿素降解速度比遮光对照快。②光照处理下第 4 d 烟叶的 PS II 实际光化学效率(PhiPS2)和电子传递速率(ETR)较第 1 d 时分别降了 60% 和 75%, 都明显大于它们在遮光对照中的降幅。到第 7 d 时光照处理的光化学淬灭值(qP)已降至 0.28、PSII 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )降至 0.23, 较同期遮光对照的 qP 和  $F_v/F_m$  值分别低了 38% 和 43%。③光照处理下烟叶  $H_2O_2$  和 MDA 含量峰值都约为遮光对照下相应峰值的 150%, 并且都比在遮光对照中提前 2 d 出现; 光照处理中 POD 和 CAT 酶活性峰值也比遮光对照中出现得更早、更高; 表明光照处理下烟叶的胁迫状况比在遮光对照下严重。④烟叶的被测指标中 PhiPS2、MDA 和  $H_2O_2$  受光照影响最显著。【结论】在调制变黄初期晒烟叶的光能利用效率快速下降, 可促进晒烟叶内形成大量过剩光激发能, 造成细胞内活性氧激增、氧化胁迫加重, 加速烟叶叶绿素、细胞膜脂类等化学物质的降解转化, 损害细胞的结构和功能。

**关键词:** 晒烟; 调制; 逆境; 光照; 光合作用; 叶绿素荧光; 过氧化物

晒烟具有突出的香气风格特色和良好的应用价值<sup>[1-4]</sup>。已有大量研究表明晒烟调制措施对烟叶质量和风格特色有显著影响<sup>[5-9]</sup>, 但与之相关的晒烟调制生理研究明显较少<sup>[10-11]</sup>。光照是晒烟调制中必需的因素, 也是晒烟与晾烟和烤烟在调制方法上最明显的差异因素<sup>[12-13]</sup>; 它不仅影响晒烟叶品质特色<sup>[6-9]</sup>, 还影响晒烟的叶绿素含量和衰老相关生理指标<sup>[10-11, 14]</sup>; 然而调制期的光照与晒烟叶生理生化指标变化间的关系仍不清楚。

调制变黄期的晒烟叶处在光照、水分和温度等环境因素的逆境胁迫下, 烟叶叶绿素荧光参数指标会因此受到影响。叶绿素荧光参数对光照、水分和温度等胁迫很敏感, 通过测定叶绿素荧光参数可以实时、无损地了解叶片光合能力、光合系统能量传递状况以及叶片所受胁迫的程度<sup>[15]</sup>; 监测叶绿素荧光参数已成

为研究植物逆境反应的重要方法<sup>[16]</sup>。目前, 关于晒烟调制期光照对叶绿素荧光参数和抗氧化指标的影响以及这些指标变化之间的联系鲜见报道<sup>[17]</sup>。因此, 本文测定了晒烟调制变黄期间不同光照射处理下晒烟的叶绿素含量、光合性能、叶绿素荧光参数、活性氧含量及抗氧化酶活力, 分析它们的变化规律和相互间的关系, 以探索光照在晒烟调制变黄期的影响和作用机理。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

供试晒烟品种为“什烟 1 号”, 由四川省德阳市烟草公司提供。 $H_2O_2$  测定试剂盒(A064-1-1)产自南京建成生物工程研究所; 各种常规化学试剂(AR)产自成都市科龙化工试剂厂。

**基金项目:** 中国烟草总公司四川省公司重点科技项目(No.201608)

**作者简介:** 向欢, 硕士, 研究方向: 烟叶调制, Tel: 15823703552, Email: 418128049@qq.com

**通讯作者:** 刘雷(1972—), Tel: 17713645825, Email: srars@qq.com

**收稿日期:** 2019-10-21; **网络出版日期:** 2020-08-15

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 晒烟栽培和调制

实验在 2018 年进行, 地点为四川省什邡市师古镇大泉坑村, 栽培晒烟的田间行距 100 cm、株距 45~50 cm。烟叶采收调制期在 5~6 月, 以适熟的中部烟叶为实验材料, 烟叶采收标准为主脉呈现浅白色, 叶片呈淡绿色至黄绿色。用钢管搭建晒烟调制棚架、用无色透明塑料薄膜覆盖棚顶, 用多层黑色遮阳网遮盖棚顶部的一半作为遮光处理 (CK) 区域、另一半留作光照处理区域; 悬挂黑色遮阳网将 CK 区域围绕, 以避免外来散射光的干扰。用 LI-6400XT 便携式荧光仪测得晴天正午时棚下光照处理区域光合有效辐射约为 300~350  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , CK 区域的光合有效辐射约为 10~20  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。将晒烟按单叶编竿方法编好, 烟竿平分分为两组分别置于遮光处理区域和光照处理区域进行调制; 其它调制条件和操作与当地晒烟生产习惯相同。实验期间天气状况以晴天为主。

### 1.2.2 荧光参数测定

在实验第 1~7 d 内上午 10:00 开始, 以 LI-6400XT (LI-COR, USA) 便携式光合荧光仪配上 6400-40 荧光叶室用于测定烟叶的 PS II 实际光化学效率 (PhiPS2)、非光化学淬灭 (qN)、光化学淬灭 (qP)、电子传递速率 (ETR)、PSII 最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 等荧光参数。每次测定时从两个处理下的中央区域各选取 3~5 片烟叶, 在每片烟叶的中段区域内选择以主脉为对称轴的左右 2 个位点做重复测定。

### 1.2.3 生化指标测定

在实验第 1~9 d 内, 每天从两种处理中抽取已测过叶绿素荧光参数的烟叶, 截取其中段区域 (去除主叶脉) 约 50 g, 经天平称重后分成约 5 g / 份、用锡

箔纸包裹、编号并记录重量后放入液氮中保存, 用于测定叶绿素、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、MDA 的含量和 CAT、POD 的酶活性。参考熊庆娥的方法测定叶绿素和 MDA 含量以及 POD 和 CAT 酶活性<sup>[18]</sup>。使用南京建成生物工程研究所  $\text{H}_2\text{O}_2$  测定试剂盒 (比色法) 测定  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量。使用 UV-2600 (Shimadzu, Japan) 紫外-可见分光光度计测定以上各指标的吸光度。

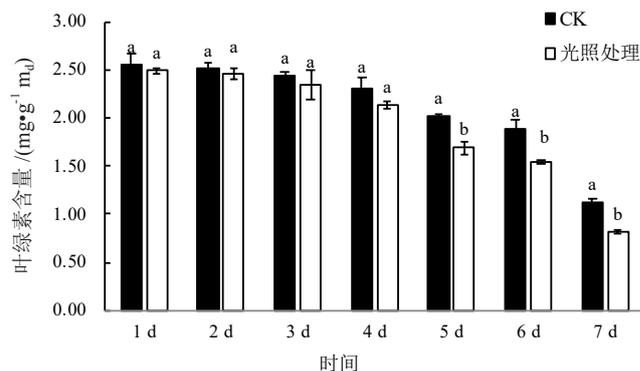
### 1.3 数据分析

用 Excel 2013 求数据均值、误差并制图, 用 DPS7.05 分析样本间差异显著性, 用 SIMCA-P13 软件做两处理间的正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA)。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶绿素含量分析

图 1 显示: 调制 4 d 后 CK 和光照处理的叶绿素含量分别比各自第 1 d 时的含量降低了 10% 和 15%,



注: 同一天中两个处理标记不同字母 (a, b 或 A, B) 表示差异显著 ( $P \leq 0.05$ ) 或极显著 ( $P \leq 0.01$ ); 下图中类同。

图 1 不同天数内 CK 和光照处理下烟叶叶绿素含量

Fig. 1 Contrast of chlorophyll content under CK and light treatment with time

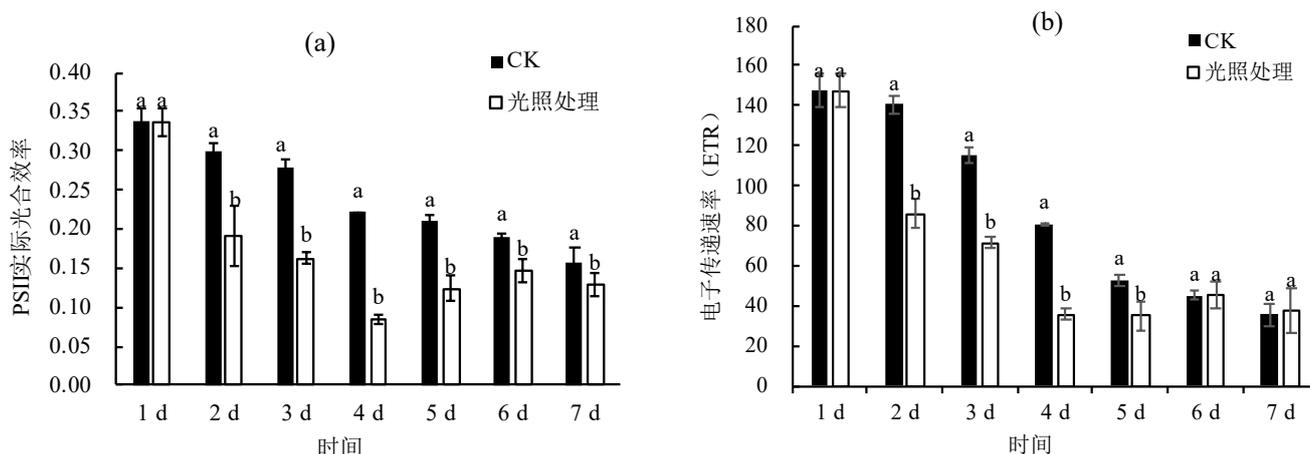


图 2 不同天数内 CK 和光照处理下烟叶的 PhiPS2 和 ETR

Fig. 2 Contrast of PhiPS2 and ETR under CK and light treatment with time

这表明在晒烟调制变黄初期的烟叶组织中仍然保有较多的叶绿素,具有接收光能的物质基础。在实验的第5~7 d内两种处理下的叶绿素下降速都明显加快,到7 d时CK和光照处理的叶绿素含量已分别减少了57%和67%;由此可推测晒烟叶的光合能力将因叶绿素含量下降而降低。

## 2.2 叶绿素荧光参数分析

图2a表明两个处理下晒烟叶的实际光合效率(PhiPS2)都在下降,在实验的第2~7 d内CK的PhiPS2一直高于光照处理。两处理的PhiPS2都是在调制的前4 d内有大幅下降,到第4 d时CK的

PhiPS2比其第1 d时低35%,而光照处理的PhiPS2降幅更大、比第1 d时低了60%。图2b中两个处理下烟叶的光合系统电子传递速率(ETR)同样有大幅下降,在第2~5 d内CK的ETR高于光照处理。到第4 d时CK烟叶的ETR比第1 d时下降了46%,而光照处理的ETR较第1 d时下降了约75%。可见在晒烟调制1~4 d内光照处理下烟叶的PhiPS2和ETR都比在CK中下降得更快;因此同CK相比,光处理下烟叶所接收的光能中将会有较多的光能因PhiPS2和ETR下降而无法参与光合反应,将有利于过剩光激发能的形成。

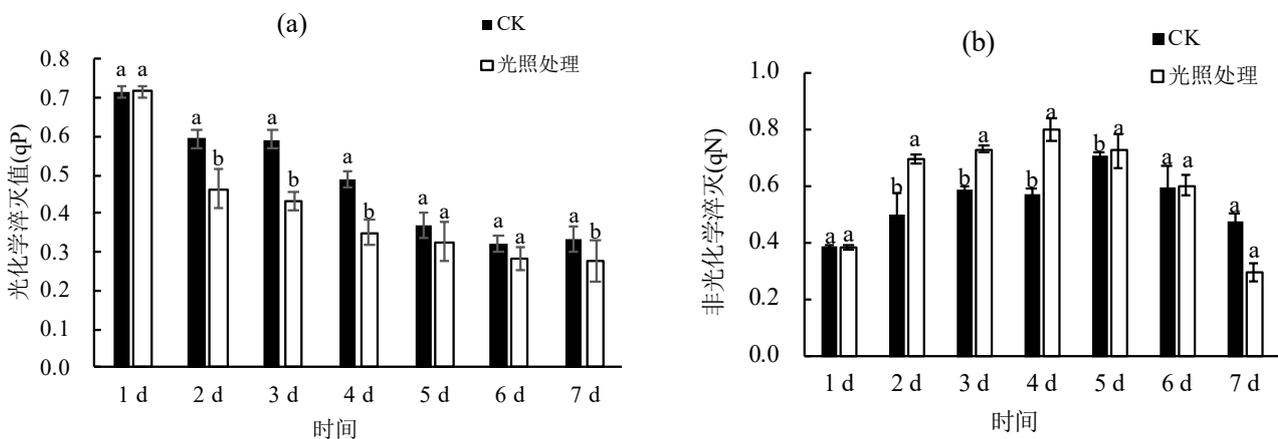


图3 不同天数内CK和光照处理下烟叶的qP和qN

Fig. 3 Contrast of qP and qN under CK and light treatment with time

两种处理下烟叶光化学淬灭值(qP)都在下降(图3a),在前4天内最明显;CK处理第4 d的光化学淬灭值(qP)较其第1 d的qP值已降了31%,而此时光照处理下的qP值较其第1 d下降了52%。在2~7 d内光照处理的qP值一直显著低于CK、到第7 d时比同

期CK qP值低38%。图3b中,CK处理下烟叶第5 d的非光化学淬灭(qN)值升到峰值、较其第1 d的qN值上升了71%,而光处理下烟叶第4 d时qN值达到峰值、比其第1 d升高了110.5%,显著高于同期的CK处理。qP和qN的变化都表明调制中晒烟叶的光能利用率持续下降,而光照处理的降幅比CK更大。在第4~7 d内两个处理的qN都转为下降,显示光合系统中以热的形式耗散掉的光能在减少;这或与同期内叶绿素含量明显下降、并导致烟叶获取的光能下降有关。

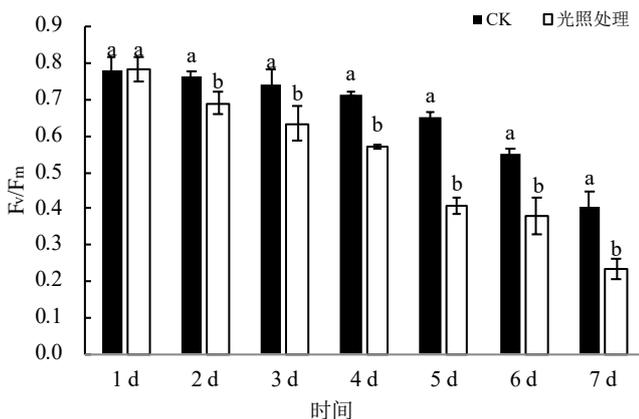


图4 不同天数内CK和光照下烟叶的Fv/Fm

Fig. 4 Contrast of Fv/Fm under CK and light treatment with time

由图4可见,在2~7 d内CK和光照处理下晒烟烟叶的Fv/Fm值均保持下降趋势,到第7 d时CK的Fv/Fm值比其第1 d下降了49%,而光照处理的Fv/Fm值下降了70%。正常烟株上的烟叶Fv/Fm值维持在0.8~0.84之间,遇到逆境胁迫越重、则Fv/Fm值降幅越大。在第2~7 d中光照处理的Fv/Fm值一直显著低于CK烟叶的Fv/Fm值,到第7 d时比同期CK的Fv/Fm值低43%,说明光照处理下烟叶光能转化率下降幅度比CK大;由此推测光照下烟叶所承受的调制逆境胁迫比CK的更严重。

### 2.3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、MDA 含量及抗氧化酶活性分析

两种处理下烟叶中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量都呈先增后减的变化趋势 (图 5); CK 中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量上升相对较缓, 至第 5 d 达峰值、约为第 1 d 含量的 4 倍; 光照处理的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量上升相对较快, 在第 3 d 时就达峰值、约为其第 1 d 含量的 6 倍, 极显著高于同期对照。在调制第 2~5 d 内, 光照处理的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量显著高于 CK, 表明光照处理下烟叶中的氧化胁迫大于 CK。在第 6~9 d 内 CK 和光照处理的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量不再随晒烟调制时间的延长而上升, 转而大幅下降; 说明随

着调制时间的延长烟叶细胞对调制逆境胁迫的反应能力在下降。

由图 6 可见, CK 的 MDA 含量持续上升至第 7 d 出现峰值 12.23  $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ , 光照处理下的 MDA 含量在调制 3 d 后便已极显著高于遮光对照, 并于第 5 d 达峰值 19.06  $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ , 比 CK 提前 2 d 时间。两个处理下的 MDA 含量峰值相差 7.69  $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ 。此变化表明光照处理下晒烟叶细胞发生细胞膜脂过氧化化的进度明显大于 CK, 细胞膜结构受损状况将比 CK 更严重。

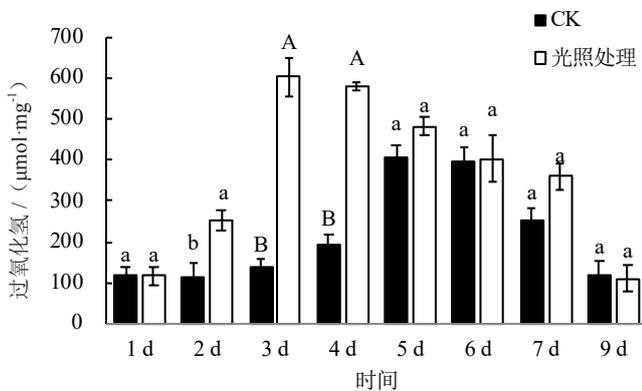


图 5 不同天数内 CK 和光照处理下烟叶的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量

Fig. 5 Contrast of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content under CK and light treatment with time

图 7a 中 CK 的 POD 酶活性在第 6 d 时升到峰值 55.04 U·g<sup>-1</sup>, 而光照处理下调制 3 d 后烟叶 POD 酶活性升到峰值 59.57 U·g<sup>-1</sup>, 它比 CK 中的峰值提前 3 d 出现。图 7b 中 CAT 酶活性变化趋势与 POD 相似, CK 的 CAT 酶活性峰值晚于、且低于光照处理。CAT 和 POD 的酶活性的变化暗示: 光照处理下烟叶的抗

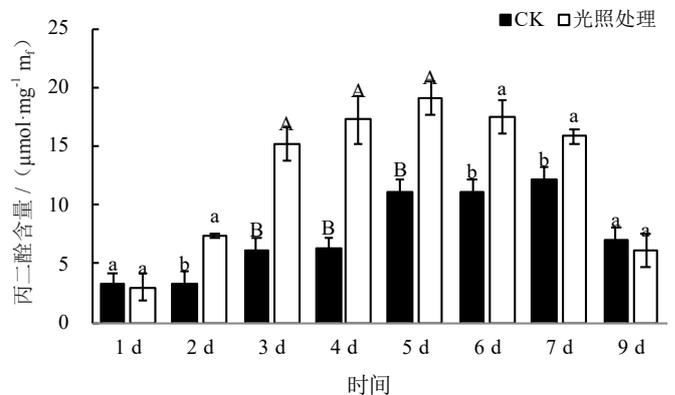


图 6 不同天数内 CK 和光照处理下 MDA 含量

Fig. 6 Contrast of MDA content under CK and light treatment with time

氧化反应比 CK 中出现得更早、更剧烈。

在第 6~9 d 中 CK 和光照处理的 CAT 和 POD 的酶活性未随调制时间增长而继续升高, 反而均出现大幅下降, 到第 9 d 时 CAT 和 POD 酶活性已低于它们第 1 d 的水平, 显示此时烟叶的抗氧化能力都已明显衰弱。

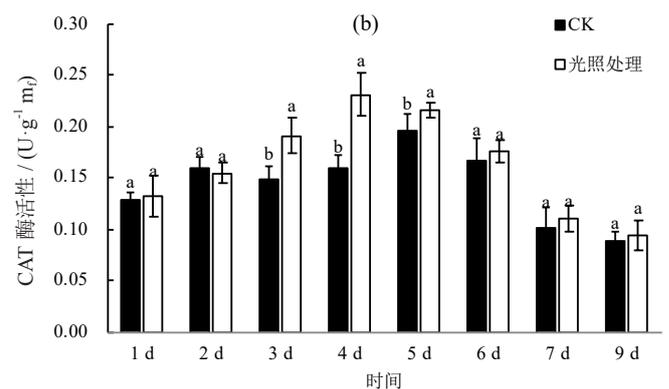
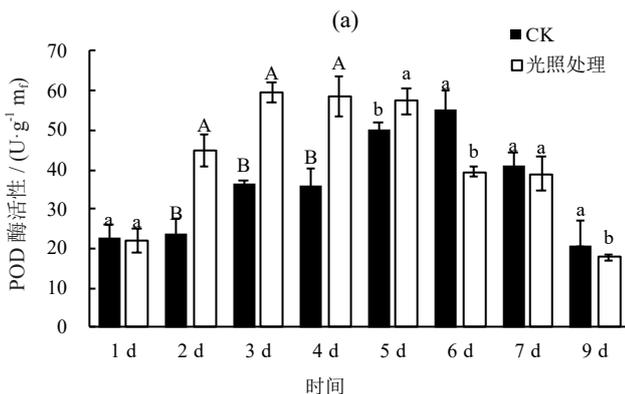


图 7 不同天数内 CK 和光照处理下烟叶中 POD 和 CAT 酶活性

Fig. 7 Contrast of POD and CAT activity under CK and light treatment with time

## 2.4 处理间 OPLS-DA 分析

为分析遮光 CK 处理和光照处理下烟叶中各种被测定指标间的相互关系及其对光、暗处理的响应状况, 本文以各指标为变量对 1~7 d 内光照处理和遮光对照烟叶样本群体进行了正交偏最小二乘判别分析

(OPLS-DA), 得到了具有显著性的 OPLS-DA 模型, 其对总方差的解释能力为  $R^2X(\text{cum}) = 0.959$ 、 $R^2Y(\text{cum}) = 0.621$ , 预测能力为  $Q^2(\text{cum}) = 0.398$ 。绘制变量载荷图(图 8a)和变量的 VIP (Variable Importance) 图(图 8b)。

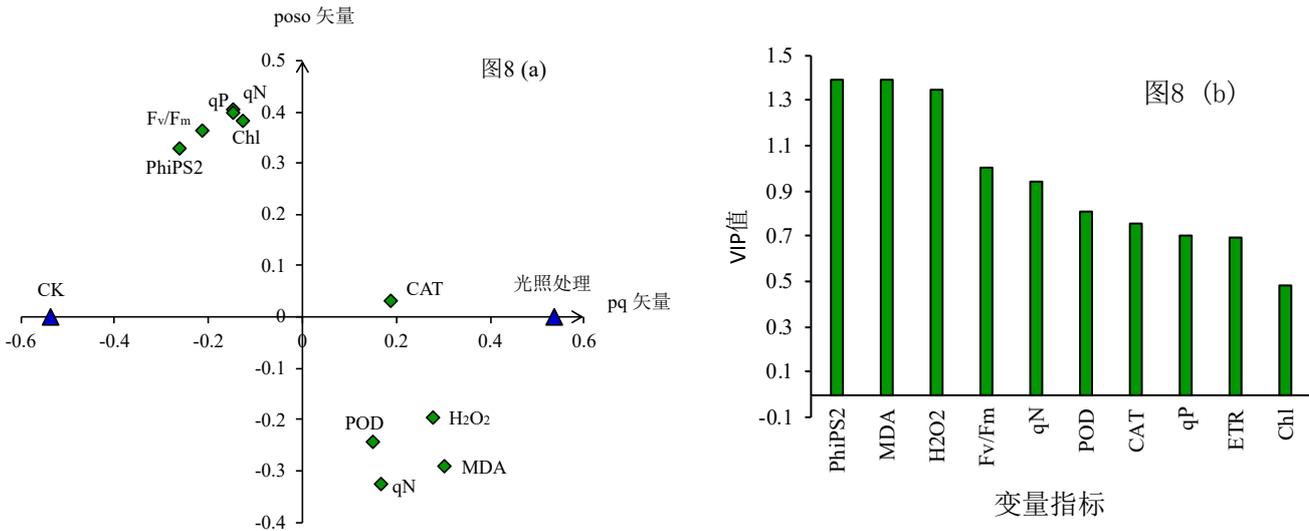


图 8 CK 和光照处理的 OPLS-DA 模型中变量的载荷和 VIP 分析

Fig. 8 Loading plot and VIP plot on OPLS-DA model under CK and light treatment

变量载荷图(图 8 a)中各指标变量所处的相限位置和彼此间邻近程度的反映了指标变量与两个处理间、以及指标彼此间的相关程度; 其中 PhiPS2、ETR、qP、 $F_v/F_m$  和叶绿素(Chl)这 5 个与光合作用密切相关的指标集中出现在与 CK 相近的左上区域中、彼此间相互接近, 说明它们彼此间相关性强; 而  $H_2O_2$ 、MDA、CAT 和 POD 这 4 种与细胞抗氧化有关的指标则较为集中地出现在图中右下部更靠近光照处理所在的位置、且与 qN 较近; 这反映这些抗氧化指标以及 qN 之间的相关性较强; 同时还表明在 CK 处理下烟叶的总体光合能力大于光照处理下的烟叶, 而光照处理下烟叶的抗氧化反应比 CK 中的更强烈。

图 8b 中 PhiPS2、 $H_2O_2$  和 MDA 这 3 个指标的 VIP 值都在 1.3 以上、明显高于其它指标, 说明它们是对光照处理反应最为敏感、变化最突出的指标。因为以上指标是代表叶细胞光合作用和抗氧化能力的重要指标, 由此可知在晒烟调制 1~7 d 内, 光照处理可以对烟叶细胞的光合作用和抗氧化能力产生重大影响。

## 3 讨论

前人研究表明光照能促进晒烟调制初期叶绿素含

量的下降<sup>[14, 23]</sup>。本研究也显示光照处理下叶绿素含量下降速度比 CK 快。在吴疆的研究中叶绿素含量在调制 1~4 d 内就已明显降低, 而本文中叶绿素含量下降相对较缓。此差异很可能是实验条件或取样方法不同所致, 如本研究中什邡烟区的生态环境、栽培品种、种植季节、栽培方法和采收、调制方法等多方面均与前者研究地万源烟区不同, 而这些条件的差异都能影响晒烟叶内物质成分<sup>[2, 5, 7, 10-12, 14]</sup>。

叶绿素荧光参数是反映植物光合能力和植物所承受的胁迫程度的重要指标<sup>[24-28]</sup>。本研究中发现晒烟叶在调制变黄期 1~7 d 内有明显的荧光信号, 表明此时烟叶的叶绿素和光合系统仍然保有一定的工作能力。光照处理下晒烟叶的 PhiPS2、ETR、qP 和  $F_v/F_m$  值都在调制过程中保持下降趋势, 此现象与烟叶叶绿素荧光参数在干旱或高光强胁迫下的变化规律相符合<sup>[19-21]</sup>。CK 中 PhiPS2 和 ETR 等多个与烟叶光合能力呈正相关的荧光参数在调制过程中也在下降, 但降幅低于光照处理。本研究中的  $F_v/F_m$  和其它多项荧光参数变化状况都表明光处理下烟叶所受胁迫程度更重。

$H_2O_2$  和 MDA 是植物逆境代谢的代表性物质, 其含量高低与植物细胞所受胁迫程度密切相关<sup>[29-30]</sup>。调制初期 CK 和光照处理中  $H_2O_2$  和 MDA 浓度都有明

显上升,这与宫长荣、陈秋芳的研究结论相符<sup>[11,31]</sup>; CK 的  $H_2O_2$  和 MDA 浓度都明显低于光照处理,这说明调制期间的光照处理使烟叶细胞中的过氧化物浓度提高了、使细胞膜结构受损更重。

光照处理下烟叶中快速大量形成的  $H_2O_2$  还激发了烟叶抗氧化酶活性的上升, CAT 和 POD 酶活性峰值比 CK 中出现得更早、更高。1~7 d 内光、暗两种处理下烟叶中 CAT 和 POD 酶活性都是先升后降,这与陈秋芳、王宏辉研究结果相符<sup>[31-32]</sup>。结合前面分析的各项指标不难看出在 5~7 d 内烟叶细胞在结构和功能上已受损或衰弱了;与此同时 CAT 和 POD 酶活性也快速下降,细胞最终将丧失抗氧能力。

本研究认为在晒烟调制初期,烟叶不仅有能力接收光合作用所需的光能,还接收到光照中的辐射热能和大量超过烟叶光合作用所能利用的“过剩光激发能”,它们可造成光胁迫、光破坏和叶内氧化胁迫。其作用机理如图 9 示意:晒烟叶在变黄期受到失水、高温、强光等逆境因素的胁迫,导致叶细胞的叶绿素含量和光合能力不断地下降。因此,烟叶光合系统接收的一部分光能将无法利用、转而成为“过剩光激发能”,经光合系统转化后释放大量的自由电子,它们与  $O_2$  结合形成 ROS 又使细胞内过氧化物 ( $H_2O_2$  等) 浓度上升。过氧化物的增加能促使细胞抗氧化反应加剧,使细胞内 CAT 和 POD 等抗氧化酶活性快速上升。然而,由于切断了烟叶的水分和养分物质补充,细胞抗氧化系统清除 ROS 能力难以持久、继而衰弱。在另一方面,由于烟叶所处的调制逆境状况不断加重,使叶细胞中生成、积累更多的 ROS。ROS 可使细胞膜

脂发生过氧化产生 MDA,造成细胞毒害、损害细胞结构和功能<sup>[33-34]</sup>。因此,光照处理下烟叶细胞的光合能力和抗氧化能力都因高浓度 ROS 持续作用而明显下降,最后失去对光照等环境逆境因素的反应能力。

郑昕、时向东等人的研究表明光照可提高烟叶香气物质含量、安全性、香气质和感官质量,但是过强的光照能使叶内物质转化不充分、烟叶品质下降<sup>[5,9]</sup>。本研究显示调制初期的光照可明显改变烟叶的光合能力和抗氧化反应,继而将影响到烟叶细胞中复杂的物质代谢乃至烟叶品质的形成。因此,如果进一步研究晒烟变黄期的光照条件与烟叶细胞中过剩光激发能的关系、细胞内过氧化物与烟叶品质的关系,将有助于合理控制晒烟调制过程的光照条件、优化晒烟品质。

#### 4 结论

在调制变黄初期晒烟叶的叶绿素仍可接收环境光能并传递给光合系统。调制胁迫使晒烟叶的光能利用率明显下降,导致叶片所接收的部分光能无法被利用、转而成为过剩光激发能。这可促进  $H_2O_2$  和 MDA 等物质的形成和积累, CAT 和 POD 等抗氧化酶活性也因此升高。光照对调制变黄期烟叶的 PhiPS2、MDA 和  $H_2O_2$  含量影响最大。调制变黄期的光照可明显降低烟叶光合系统的工作能力、加剧烟叶中氧化胁迫状态,促进胞内物质转化。

#### 参考文献

- [1] 颜克亮,曾晓鹰,胡巍耀,等. 晾晒烟叶模块在烤烟型卷烟中的应用[J]. 中国烟草学报. 2012, 18 (1): 19-25.  
YAN Kelian, ZENG Xiaoying, HU Weiyao, et al. Application of air-cured tobacco leaves module in Virginia type cigarette [J]. Acta Tabacaria Sinica. 2012, 18 (1): 19-25.
- [2] 许美玲,贺晓辉,宋玉川,等. 76 份雪茄烟资源鉴定评价[J]. 中国烟草学报. 2018, 24 (5): 14-22.  
XU Meiling, HE Xiaohui, SONG Yuchuan, et al. Identification and comprehensive evaluation of 76 germplasm of cigar tobacco [J]. Acta Tabacaria Sinica. 2018, 24 (5): 14-22.
- [3] 刘善民,张扬,王以慧,等. 晒红烟重要致香物质与使用用途关系研究[J]. 中国烟草学报. 2016, 22 (4): 44-51.  
LIU Shanmin, ZHANG Yan, WANG Yihui, et al. Study on correlation between major flavor components and intended uses of red sun-cured tobacco [J]. Acta Tabacaria Sinica. 2016, 22 (4): 44-51.
- [4] 闫金玉. 烟草原料学[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 52  
YAN Keyu. Tobacco raw materials [M]. BEI JING: Science Press, 2008: 52.
- [5] 郑昕,史宏志,杨兴有,等. 不同调制方式对万源晒烟化学成分含量的影响[J]. 烟草科技, 2018, 51(7): 17-23.  
ZHENG Xin, SHI Hongzhi, YANG Xingyou, et al. Effects of curing methods on contents of chemical components in Wanyuan sun-cured tobacco [J]. Tobacco Science & Technology, 2018, 51(7): 17-23.

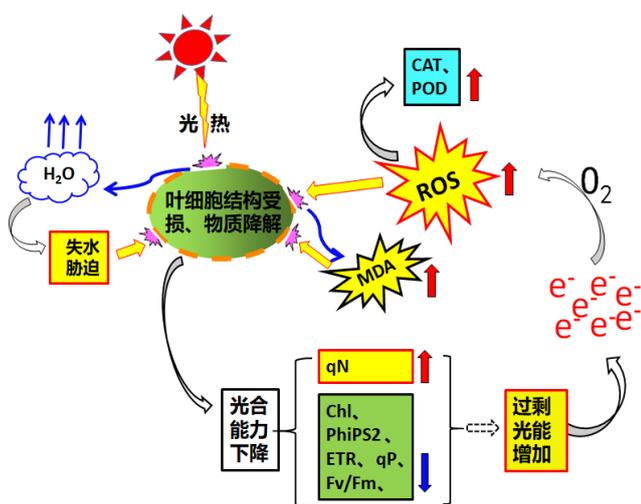


图 9 光照对调制变黄初期的晒烟叶影响机制示意图

Fig. 9 Mechanism schemes of light effect on sun-cured tobacco leaf in the early stage of yellowing period

- [6] 李晶晶, 史宏志, 杨兴有, 等. 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, 中国烟草学报, 2017, 24(1): 68-76  
LI Jingjing, SHI Hongzhi, YANG Xingyou, et al. Effect of harvesting time and curing means on variation of amino acid content in Wanyuan sun-cured tobacco before and after curing [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2017, 24(1): 68-76
- [7] 刘雷, 江鸿, 曾代龙, 等. 留叶数和成熟度对雪茄烟叶品质的影响. 西南农业学报. 2016, 29(8): 1844-1848.  
LIU Lei, JIANG Hong, ZENG Dailong, et al. Effects of leaf number and harvest maturity on quality of cigar tobacco leaves [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2016, 29(8): 1844-1848.
- [8] 张广东, 史宏志, 杨兴有, 等. 烤烟和白肋烟互换调制方法对烟叶中性香气物质含及感官质量的影响 [J]. 中国烟草学报, 2015, 21(4): 34-39.  
ZHANG Guangdong, SHI Hongzhi, YANG Xingyou, et al. Effects of exchanging curing methods between flue-cured and burley tobacco on their contents of neutral aroma substances and sensory quality [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2015, 21(4): 34-39.
- [9] 时向东, 王旭锋, 林开创, 等. 不同调制方法对晒红烟品质的影响 [J]. 河南农业科学, 2013, 42(4): 55-58.  
SHI Xiangdong, WANG Xufeng, LIN Kaichuang, et al. Effects of different curing methods on quality of dark sun-cured tobacco [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2013, 42(4): 55-58.
- [10] 刘成伟, 杨兴有, 史宏志, 等. 不同白肋烟晾房调制期间温湿度和烟叶含水率与色素含量比较 [J]. 中国农学通报, 2012, 28(19): 117-122  
LIU Chengwei, YANG Xingyou, SHI Hongzhi, et al. Comparison on the temperature and relative humidity and the content of water and pigments in burley tobacco leaves during air-curing in different barns [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(19): 117-122
- [11] 宫长荣, 宋朝鹏, 尹宏伟, 等. 调制过程中白肋烟某些衰老指标及色素含量的变化 [J]. 中国烟草科学, 2004, (1): 7-9.  
GONG Changrong, SONG Zhaopeng, YIN Hongwei, et al. Change of some senescence substances and pigment in burley tobacco leaves during air-curing [J]. Chinese Tobacco Science, 2004, (1): 7-9.
- [12] 宫长荣. 烟草调制学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2011:164.  
GONG Changrong. Tobacco curing [M]. BEI JING: China Agriculture Press, 2011:164.
- [13] 王能如. 烟草调制与分级 [M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 2002: 185.  
WANG Nengru. Tobacco curing and grading [M]. HE FEI: Press of University of Science and Technology of China, 2002:185.
- [14] 吴疆, 张广东, 杨兴有, 等. 四川万源晒烟调制方式对烟叶品质的影响 [J]. 烟草科技 2014, 11: 80-83.  
WU Jiang, ZHANG Guangdong, YANG Xingyou, et al. Effects of curing methods on leaf quality of Wanyuan sun-cured tobacco [J]. Tobacco Science & Technology. 2014, 11: 80-83.
- [15] 刘自刚, 袁金海, 孙万仓, 等. 低温胁迫下白菜型冬油菜差异蛋白质组学及光合特性分析 [J]. 作物学报, 2016, 2 (10): 1541-1550.  
LIU Zigang, YUAN Jinhai, SUN Wancang, et al. Differential proteomic analysis and photosynthetic characteristics of winter rapeseed under low temperature stress [J]. Acta Agronomica Sinica, 2016, 42 (10): 1541-1550.
- [16] Salvatori E, Fusaro L, Gottardini E, et al. Plant stress analysis: Application of prompt, delayed chlorophyll fluorescence and 820 nm modulated reflectance. Insights from independent experiments [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 85: 105-113.
- [17] 刘志辉, 朱旭东. 叶绿素荧光分析技术在烟草研究中的应用 [J]. 安徽农业科学, 2015, 4 (3): 10-11.  
LIU Zhihui, ZHU Xudong. Application of chlorophyll fluorescence analysis technology in tobacco research [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences. 2015, 4 (3): 10-11.
- [18] 熊庆娥. 植物生理学实验教程 [M]. 成都: 四川科学出版社, 2010: 114-126.  
XIONG Qinge. Plant physiological experiments course [M]. CHENGDU: Sichuan Science Press, 2010: 114-126.
- [19] 张艾改, 刘国顺, 云菲, 等. 外源葡萄糖对高温强光下旺长期烤烟光合特性及碳氮代谢关键酶活性的影响 [J]. 烟草科技. 2019, 52(8): 9-15.  
ZHANG Aigai, LIU Guoshun, YUN Fei, et al. Effects of exogenous glucose on photosynthesis and key enzyme activities in carbon and nitrogen metabolism of flue-cured tobacco at fast-growing stage under high temperature and high light intensity [J]. Tobacco Science & Technology, 2019, 52(8): 9-15.
- [20] 李冬, 王艳芳, 申洪涛, 等. 外源 MT 和 EBR 对于旱胁迫下烤烟幼苗的缓解效应 [J]. 中国烟草学报, 2019, 25(5): 77-85.  
LI Dong, WANG Yanfang, SHEN Hongtao, et al. Alleviation effects of exogenous melatonin and 2, 4-epibrassinolide on flue-cured tobacco seedlings under drought stress [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2019, 25(5): 77-85.
- [21] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论 [J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 444-448.  
ZHANG Shouren. A Discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their Significance [J]. Chinese Bulletin of Botany, 1999, 16(4): 444-448.
- [22] 张阿宏, 齐孟文, 张晔晖. 调制叶绿素荧光动力学参数及其计量关系的意义和公理化讨论 [J]. 核农学报, 2008, 22 (6): 909-912.  
ZHANG Ahong, QI Mengwen, ZHANG Yehui. A discussion on chlorophyll fluorescence induction parameters and their measurement [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2008, 22 (6): 909-912.
- [23] 刘国庆, 魏建荣, 招启柏, 等. 不同调制方法对晒黄烟叶绿素降解和脂氧合酶活性的影响 [J]. 中国烟草学报, 2015, 21(2): 75-78.  
LIU Guoqing, WEI Jianrong, ZHAO Qibai, et al. Effect of different curing methods on chlorophyll degradation and lipoxidase activity of yellow sun-cured tobacco [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2015, 21 (2): 74-78.
- [24] 岑海燕, 姚洁妮, 翁海勇, 等. 叶绿素荧光技术在植物表型分析的研究进展 [J]. 光谱学与光谱分析. 2018, 38 (12): 3773-3779.  
CEN Haiyan, YAO Jieni, WENG Haiyong, et al. Applications of chlorophyll fluorescence in plant phenotyping: a review [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis. 2018, 38 (12): 3773-3779.
- [25] 赵丽英, 邓西平, 山仑. 不同水分处理下冬小麦旗叶叶绿素荧光参数的变化研究 [J]. 中国生态农业学报. 2007, 15 (1): 63-66.  
ZHAO Liying, DENG Xiping, SHAN Lun. Effects of altered water condition on some chlorophyll fluorescence parameters of flag leaves of winter wheat [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture. 2007, 15(1):63-66.
- [26] 司继播, 孙明, 刘良云. 叶绿素荧光分析技术综述 [C]// 2007 中国农业工程学会学术年会论文集. 北京: 中国农业工程学会, 2007: 1-5.  
SI Jibo, SUN Ming, LIU Liangyun, et al. Summarization of the chlorophyll fluorescence analysis technique [C]. Proceedings of the 2007 Annual Conference of the Chinese Academy of Agricultural Engineering. BEI JING: Chinese Society of Agricultural Engineering. 2007: 1-5.

- [27] 王建林, 关法春. 高级作物生理学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社. 2013: 93.  
WANG Jianlin, GUAN Fachun. Advanced crop physiology [M]. BEI JING: China Agricultural University Press. 2013: 93.
- [28] 赵永长, 宋文静, 邱春雨, 等. 黄腐酸钾对渗透胁迫下烤烟幼苗生长和光合荧光特性的影响 [J]. 中国烟草学报. 2016, 22 (4): 98-106.  
ZHAO Yongchang, SONG Wenjin, QIU Chunli, et al. Effects of fulvic acid potassium on growth and photosynthetic fluorescence characteristics of flue-cured tobacco seedlings under osmotic stress [J]. Acta Tabacaria Sinica. 2016, 22 (4): 98-106.
- [29] 王志昊, 叶冬梅, 何炎红, 等. 5 种沙生植物丙二醛、脯氨酸和 2 种氧化物酶比较 [J]. 分子植物育种. 2018, 16(11):3727-3731.  
WANG Zhihao, YE Dongmei, HE Yanhong, et al. Comparison of the content of MDA, proline and activity of two kinds of enzyme in 5 common desert plants [J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16 (11): 3727-3731.
- [30] 刘云芬, 王薇薇, 祖艳侠, 等. 过氧化氢酶在植物抗逆中的研究进展 [J]. 大麦与谷类科学. 2019, 36 (1): 5-8.  
LIU Yunfen, WANG Weiwei, ZU Yanxia, et al. Research progress on the effects of catalase on plant stress tolerance [J]. Barley and Cereal Sciences. 2019, 36 (1): 5-8.
- [31] 陈秋芳, 郭月清, 宫长荣. 白肋烟调制过程中叶片膜脂过氧化特性的研究 [J]. 河南农业大学学报 1997,31(4): 323-326.  
CHEN Qiufang, GUO Yueqing, GONG Changrong. The characteristics of membrane lipid peroxidation in burley tobacco leaves during curing [J]. Acta Agriculture Boreali Sinica, 1997, 31(4): 323-326.
- [32] 王宏辉, 顾俊杰, 房伟民, 等. 高温胁迫对 4 个红掌盆栽品种生理特性的影响 [J]. 华北农学报, 2016, 31 (2): 139-145.  
WANG Honghui, GU Junjie, FANG Weimin, et al. Effect of high-temperature stress on physiological property of four potted cultivars of Anthurium andraeanum [J]. Acta Agriculture Boreali Sinica, 2016, 31 (2): 139-145.
- [33] 邹琦, 孟庆伟. 逆境条件下植物耗散过剩光能的途径 [C]// 1999, 中国植物生理学会植物环境生理学术讨论会论文集. 昆明: 中国植物生理学会 1999: 49-52.  
ZOU Qi, MENG Qingwei. Ways for plants to dissipate excess light energy under adversity [C]//1999. Collected papers of the symposium on plant environmental physiology, Chinese Society of Plant Physiology. KUNMING: Chinese Society of Plant Physiology, 1999: 49-52.
- [34] 方怡然, 薛立. 盐胁迫对植物叶绿素荧光影响的研究进展 [J]. 生态科学. 2019, 38 (3): 225-234.  
FANG Yiran, XUE Li. Research advances in the effect of salt stress on plant chlorophyll fluorescence [J]. Ecological Science. 2019, 38 (3): 225-234.

## Effects of light on chlorophyll fluorescence and antioxidant indexes of sun-cured tobacco leaves during yellowing period

XIANG Huan<sup>1,2</sup>, WANG Jun<sup>2</sup>, CHEN Yong<sup>2</sup>, TANG Weirong<sup>1</sup>, ZHANG Fan<sup>1</sup>, LIU Lei<sup>1\*</sup>

1 College of Agriculture, Sichuan Agricultural University, No.211 Huimin Road, Wenjiang District, Chengdu 611130, China;

2 Sichuan Tobacco Corporation Deyang Branch, No.176 Changjiang East Road, Deyang 618400, China

**Abstract:** This study aims to reveal the effects of light on chlorophyll fluorescence and antioxidant indexes of sun-cured tobacco leaves in yellowing period of curing. Tobacco samples under the light treatment and shading treatment (CK) were collected dynamically during yellowing period. Indexes of chlorophyll fluorescence, activities of antioxidant enzymes and contents of chlorophyll, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and MDA were measured. The results showed: 1) The degradation rate of chlorophyll under light treatment was faster than that under CK. 2) Photochemical efficiency of PS II (PhiPS2) and electron transfer rate (ETR) decreased by 60% and 75% respectively in the first 4 days under light treatment, which was significantly greater than that under CK. On the 7<sup>th</sup> day, photochemical quenching (qP) value and the maximum photochemical efficiency (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) value decreased to 0.28 and 0.23, which were lower than that under CK by 38% and 43%, respectively. 3) The peak values of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and MDA contents under light treatment were 1.5 times of that under CK, and appeared 2 days earlier compared with the situation under CK. The peak values of POD and CAT activities in light treatment were also higher than that under CK. 4) Of all tested indexes, PhiPS2, MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were the most affected by light treatment. In conclusion, this study demonstrates that light energy utilization efficiency of sun-cured tobacco leaves decreased rapidly in the early stage of yellowing. Part of the light energy received by tobacco leaves was converted into excess light excitation-energy, which could proliferate reactive oxygen species, aggravate oxidative stress, accelerate the degradation and transformation of chlorophyll, membrane lipid and other chemical substances in tobacco leaves and damage cell structure and function.

**Keywords:** sun-cured tobacco; curing; adversity stress; light; photosynthesis; chlorophyll fluorescence; peroxide

\*Corresponding author. Email: srars@qq.com