

# 喷施外源植物生长调节物质对白肋烟烟碱含量及其合成关键酶活性的影响

梁思威<sup>1</sup> 杨锦鹏<sup>2</sup> 余君<sup>2</sup> 徐芳森<sup>1</sup> 杨春雷<sup>2</sup>

1. 华中农业大学微量元素研究中心, 武汉 430070; 2. 湖北省烟草研究所, 武汉 430030

**摘要** 采用盆栽试验, 研究白肋烟打顶后喷施外源植物生长调节物质 YCL2 和 Z5 对烟碱含量及其合成关键酶(鸟氨酸脱羧酶和精氨酸脱羧酶)的活性以及总氮、总糖、氯和钾含量的影响。结果表明:白肋烟打顶后喷施 YCL2 和 Z5 能够显著降低白肋烟叶片烟碱的含量, 其中喷施 YCL2 使上部叶片烟碱含量降低 20.47%, 喷施 Z5 使上、中部叶片烟碱含量分别降低 34.36% 和 32.38%; 喷施 YCL2 和 Z5 能显著降低合成烟碱关键酶(鸟氨酸脱羧酶和精氨酸脱羧酶)的活性。喷施 YCL2 和 Z5 对烟叶重要品质指标(总氮、总糖、氯和钾)的含量没有显著影响。结果说明, 喷施外源植物生长调节物质 YCL2 和 Z5 能显著降低烟叶烟碱含量, 但不影响烟叶品质, 在烟叶生产调控烟碱含量上具有较大的推广应用价值。

**关键词** 白肋烟; 外源活性物质; 烟碱含量; 鸟氨酸脱羧酶; 精氨酸脱羧酶

**中图分类号** S 572 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2013)05-0072-05

鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase, ODC)和精氨酸脱羧酶(arginine decarboxylase, ADC)是烟碱合成过程中的 2 个关键酶, 其活性的高低将会影响烟草中烟碱的含量, 而烟碱积累量将会影响烟草的品质<sup>[1]</sup>。目前, 在我国烟叶特别是高烟碱含量的白肋烟生产过程中, 很多因素会导致烟碱积累量偏高。研究表明, 施肥水平、打顶时期、留叶数等栽培措施都可以改变烟碱的含量<sup>[2-5]</sup>。施用蒸腾抑制剂以及施用单一化学物质降低烟碱含量已有报道<sup>[6-9]</sup>。自从马来酰肼(maleic hydrazine, MH)被禁用以后, 至今还缺乏在农业生产中大规模推广应用并且调节烟草叶中烟碱积累、降低烟碱含量的有效途径和措施<sup>[10-12]</sup>。近年来, 湖北省烟草研究所通过多年的大田试验研究, 发现 2 种混合型外源植物生长调节物质 YCL2 和 Z5 能有效地降低烟叶的烟碱含量, 对白肋烟中、上部叶片烟碱的降幅分别为 23.1%~51.8%、13.6%~51.0%; 对烤烟中、上部叶片烟碱的降幅分别为 1.1%~8.6%、7.9%~22.3%, 而且能够在烟叶生产上大规模的推广应用。笔者对白肋烟烟碱合成过程中的 2 个关键酶的活性以及白肋烟烟草品质相关的化学成分进行考察,

旨在揭示白肋烟打顶后施用外源植物生长调节物质 YCL2 和 Z5 降低烟碱的原因及其对品质的影响, 为 YCL2 和 Z5 的推广应用提供理论依据。

## 1 材料与试验方法

### 1.1 试验材料

试验于 2010 年在湖北省恩施土家族苗族自治州崔坝镇白肋烟试验站采用大棚盆栽的方法进行。供试土壤为黄棕壤, 土壤有机质 2.50 g/kg, 碱解氮 147.0 mg/kg, 有效磷 10.4 mg/kg, 速效钾 95.0 mg/kg。供试品种为白肋烟鄂烟 1 号, 2 种外源植物生长调节物质为 YCL2 和 Z5, 均由湖北省烟草研究所提供。其中, YCL2 由生长素(auxin, IAA)和水杨酸(salicylic acid, SA)组成, Z5 由生长素、水杨酸和萘乙酸(naphthylacetic acid, NAA)组成, 施用方法参见文献<sup>[13]</sup>。

### 1.2 试验设计

盆栽试验盆钵采用 35.5 cm×23.5 cm 的塑料桶, 每桶装土 18.0 kg。试验设 3 个处理: 喷施外源植物生长调节物质 YCL2(IAA+SA); 喷施外源植物生长调节物质 Z5(IAA+SA+NAA); 喷施清水

收稿日期: 2012-08-20

基金项目: 国家烟草专卖局项目(110201002020)

梁思威, 硕士。研究方向: 植物营养生理。E-mail: hui5429@126.com

通讯作者: 杨春雷, 研究员。研究方向: 烟草栽培。E-mail: ycl193737@163.com

(CK)。具体方法为白肋烟初花期打顶4 h后,每株施用约250 mL外源植物生长调节物质,同时喷施等量清水作对照(CK)。外源植物生长调节物质施用的质量浓度组成(根据笔者前期研究筛选适宜质量浓度试验确定)为SA 400 mg/L, IAA 10 mg/L, NAA 10 mg/L。每个处理设3个重复,每个重复20盆,共60盆,每盆种植1株白肋烟。每个处理施肥量一致,施肥量按照施纯氮17.5 kg/667 m<sup>2</sup>标准执行,即每株施氮量为15.77 g,氮、磷、钾施用比例分别为N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O=1:1:2,分别以硝酸铵(含氮量为30%)、过磷酸钙(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>含量为12%)和农用硫酸钾(K<sub>2</sub>O含量为49.4%)为肥源,不施有机肥及其他肥料。各盆随机排列,管理一致。

### 1.3 样品采集

1) 叶片采样。分别于打顶前(0 d,即实施打顶喷施药剂的当天)、打顶喷施后第1、8、15、22天取样,共5次。最后1次取样后将剩余的白肋烟斩株晾制。每次各处理随机选3株进行取样,分上部、中部叶采集。叶位标准为从上往下数,上部叶4~7叶位,中部叶10~13叶位。鲜样经105℃杀青30 min,75℃烘至恒质量,然后粉碎保存在封口袋中,用于分析烟碱、总氮、总糖等指标。

2) 根样采集。在采集叶片样品的同时取根样。向烟株盆中注入适量的清水,浸泡至土壤疏松,然后连株带土取出,用水将根表的泥土洗净,尽量减少根系损失。剪取直径≤1 mm的幼嫩根系,同一棵烟株所取根系组成1个混合样,用吸水纸吸干根系表面的水,然后将根样分作5份,每份6~8 g,超低温保存,用于测定鸟氨酸脱羧酶和精氨酸脱羧酶。由于第5次,即打顶后第22天所取根系样没保存好,故未测定。

### 1.4 测试方法

精氨酸脱羧酶(arginine decarboxylase, ADC)

活性测试采用紫外分光光度法<sup>[14-15]</sup>;鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase, ODC)活性测试采用高效液相色谱法<sup>[16]</sup>(高效液相色谱仪型号是Agilent 1200);烟碱含量测定依据YC/T 160—2002烟草及烟草制品总植物碱的测定——连续流动法<sup>[17]</sup>(仪器为美国Astoria-Pacific International公司生产的Astoria Analyzer);总氮含量测定采用半微量凯氏定氮法<sup>[18]</sup>;总糖含量测定用蒽酮比色法<sup>[18]</sup>;钾含量测定采用火焰光度计法<sup>[18]</sup>;氯含量测定采用自动电位滴定法<sup>[18]</sup>。

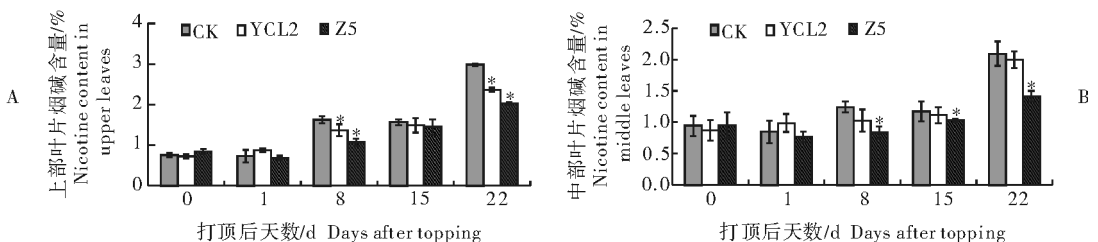
### 1.5 数据分析

试验相关数据用SPSS 17.0、Excel 2010软件进行统计分析和作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 喷施YCL2和Z5对烟碱含量的影响

由图1可知,打顶后3个处理上、中部叶片烟碱含量都呈现上升趋势。对照处理打顶前中部叶片烟碱含量要高于上部叶片烟碱含量,而打顶后22 d,上部叶片烟碱含量要高于中部叶片烟碱含量,表明打顶处理对上部叶片烟碱含量的影响大于中部叶片。喷施2种外源植物生长调节物质(YCL2和Z5)都能降低烟碱含量。打顶后8、22 d, YCL2和Z5都能显著降低上部叶片烟碱含量(图1-A),降低幅度分别为21.47%、20.47%和34.36%、24.16%。打顶后1、8、15、22 d, Z5处理显著降低中部叶片烟碱的含量(图1-B),下降幅度分别为21.98%、29.83%、16.26%、32.38%。砍株时, YCL2能显著降低上部叶片中烟碱含量,下降幅度为20.47%; Z5能显著降低上、中部叶片烟碱含量,下降幅度分别为34.36%、32.38%。可见,喷施YCL2、Z5都能降低白肋烟叶片烟碱含量,其中喷施Z5的效果要比YCL2好。



\* 表示差异显著( $P < 0.05$ ),下同。\* indicated significant difference at  $P < 0.05$ . The same as below.

图1 白肋烟上(A)、中(B)部叶片中烟碱含量

Fig. 1 Nicotine content in upper (A), middle (B) leaves of burley tobacco

## 2.2 YCL2 和 Z5 对烟碱代谢关键酶活性的影响

1) YCL2 和 Z5 对白肋烟根系精氨酸脱羧酶(ADC)活性的影响。由图 2 可知,打顶后 1 d,对照样品精氨酸脱羧酶(ADC)的活性显著提高,是打顶前的 2.7 倍,喷施 YCL2 和 Z5 处理 ADC 的活性相对于打顶前没有显著变化。打顶后 1 d, YCL2 和 Z5 处理的样品 ADC 的活性显著低于对照,降低的幅度分别为 57.47%、70.35%。打顶后 8、15 d, 3 个处理 ADC 的活性没有显著差异。结果表明,打顶后 1 d YCL2 和 Z5 能够抑制精氨酸脱羧酶活性,从而抑制烟碱的合成。

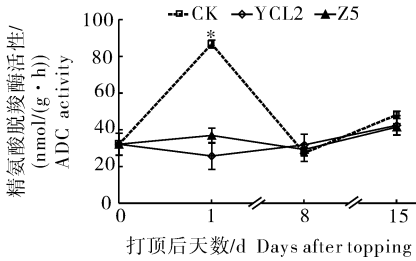


图 2 白肋烟根系精氨酸脱羧酶的活性变化趋势

Fig. 2 Arginine decarboxylase activity in roots of burley tobacco

2) YCL2 和 Z5 对白肋烟根系鸟氨酸脱羧酶(ODC)活性的影响。由图 3 可知,打顶后 1 d,对照样品鸟氨酸脱羧酶(ODC)的活性有所上升,这与前人的研究结果类似<sup>[19]</sup>。YCL2 和 Z5 处理的样品 ODC 的活性呈下降趋势,相对于对照显著降低,降低的幅度分别为 19.81%、21.36%。打顶后 8 d, YCL2 和 Z5 处理样品 ODC 的活性虽然低于对照,但没有显著差异。打顶 15 d 后,对照 ODC 的活性与 2 个处理处在同一水平,没有显著差异。结果表明,打顶后 1 d YCL2 和 Z5 能够抑制鸟氨酸脱羧酶活性,从而抑制烟碱的合成。

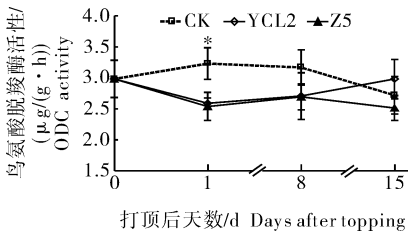


图 3 白肋烟根系鸟氨酸脱羧酶的活性变化趋势

Fig. 3 Ornithine decarboxylase activity in roots of burley tobacco

## 2.3 YCL2 和 Z5 对白肋烟其他品质的影响

从表 1 可以看出,上、中部叶片中总氮、氯和钾

的含量在打顶后 0、1、8、15 和 22 d 都没有显著变化,3 个处理都在同一水平(表 1),表明 2 种外源植物生长调节物质对总氮、氯和钾含量没有影响。打顶后各处理上、中部叶片中总糖含量呈现下降趋势,斩株前有所上升(表 1)。打顶 1 d 后, Z5 处理的白肋烟上部叶片总糖含量显著低于对照,降低幅度为 33.97%,其余时间点 3 个处理总糖含量都处于同一水平,到斩株前处理之间没有显著差异。对于中部叶片,3 个处理总糖含量始终处于同一水平,均没有显著差异。上述结果说明喷施外源植物生长调节物质对叶片中总糖含量没有显著影响。

## 3 讨论

打顶后白肋烟叶片总氮含量呈下降趋势。这与打顶后 10 d 内总氮含量上升,之后总氮呈下降趋势不一致<sup>[20]</sup>。这可能与栽培条件有关。大田条件下光照充足,有利于白肋烟光合作用,促进含氮化合物的代谢;另一方面有利于蒸腾作用,促进根系对氮的吸收,因而总氮含量在一定时间内呈上升趋势。随着叶片衰老以及根系吸收养分能力逐渐减弱,叶片总氮含量呈下降趋势。在盆栽条件下,光照比大田环境光照差,这可能是本试验打顶后 10 d 内总氮含量不出现上升趋势的原因。

白肋烟晾晒后叶片中钾含量一般在 2.0%~3.7%<sup>[2]</sup>,本试验白肋烟叶片中钾含量远远高于白肋烟平均钾含量,这一方面可能和烟株所处的环境有关。钾在植物体内是以  $K^+$  存在的,很多因素都能促使钾元素流失,如雨水淋洗、老叶脱落等<sup>[21]</sup>。本研究盆栽试验在大棚中进行,白肋烟不处于雨水淋洗等类似的环境,降低了钾元素流失的可能;另一方面,白肋烟晾晒后叶片中钾含量一般在 2.0%~3.7%,是指晾晒后白肋烟中的钾含量,本试验是在白肋烟斩株前取鲜样,烘干后测定,这也降低了钾在晾晒期间损失的可能;此外,盆栽试验的施肥量虽然是按照大田施肥量进行换算的,可是其肥料的浓度远远高于烟草处于大田时的浓度,这样会增加烟草对钾的吸收。这些可能都是本试验白肋烟叶片中钾含量高于白肋烟平均钾含量的原因。

总氮、总糖、钾和氯含量等烟草的主要化学成分将会对卷烟的香气、可燃性等有很大的影响,它们的含量也是衡量香烟品质的一个很重要的指标<sup>[2]</sup>。虽然这些指标和一般大田生长白肋烟有一定的差异(表 1),这可能是因为烟草生长条件不同所造成的,

表 1 喷施外源植物生长调节物质对白肋烟烟叶品质的影响<sup>1)</sup>

Table 1 Effect on chemical qualities of burley tobacco applied exogenous substances

%

化学品质 Chemical qualities	叶片部位 Leaves position	处理 Treatments	打顶后天数 Days after topping				
			0 d	1 d	8 d	15 d	22 d
总氮 Total nitrogen	中部叶 Middle leaves	CK		3.80±0.21	3.64±0.08	3.42±0.10	3.42±0.16
		YCL2	4.25±0.12	3.66±0.10	3.73±0.12	3.39±0.03	3.65±0.11
		Z5		3.83±0.14	3.70±0.01	3.53±0.14	3.55±0.07
	上部叶 Upper leaves	CK		4.40±0.11	4.22±0.12	3.63±0.05	3.77±0.10
		YCL2	4.97±0.14	4.22±0.11	4.31±0.13	3.61±0.16	3.79±0.14
		Z5		4.55±0.18	4.24±0.07	3.70±0.13	3.75±0.12
总糖 Total sugar	中部叶 Middle leaves	CK		4.74±0.32	2.54±0.28	2.13±0.27	2.65±0.11
		YCL2	6.37±0.65	4.76±0.09	2.47±0.19	1.89±0.11	2.16±0.14
		Z5		4.44±0.44	2.72±0.37	1.97±0.19	2.64±0.29
	上部叶 Upper leaves	CK		3.68±0.16 a	1.73±0.02	1.40±0.10	1.75±0.08
		YCL2	4.82±0.17	3.69±0.03 a	1.84±0.14	1.61±0.11	1.80±0.01
		Z5		2.43±0.17 b	1.68±0.14	1.33±0.18	1.85±0.05
氯 Chlorine	中部叶 Middle leaves	CK		0.66±0.10	0.80±0.07	0.79±0.04	0.76±0.01
		YCL2	0.79±0.02	0.68±0.07	0.88±0.10	0.83±0.03	0.75±0.01
		Z5		0.66±0.06	0.82±0.06	0.85±0.08	0.77±0.06
	上部叶 Upper leaves	CK		0.54±0.07	0.67±0.05	0.69±0.06	0.65±0.07
		YCL2	0.51±0.02	0.53±0.01	0.66±0.03	0.67±0.04	0.63±0.04
		Z5		0.51±0.09	0.65±0.06	0.70±0.01	0.60±0.07
钾 Potassium	中部叶 Middle leaves	CK		5.60±0.08	5.80±0.08	6.51±0.08	5.64±0.17
		YCL2	4.45±0.25	5.18±0.21	5.71±0.08	6.22±0.15	5.75±0.27
		Z5		4.77±0.28	5.66±0.16	6.71±0.28	5.75±0.09
	上部叶 Upper leaves	CK		4.65±0.18	5.60±0.01	5.59±0.09	4.93±0.17
		YCL2	4.39±0.12	4.77±0.08	5.55±0.19	5.54±0.16	5.00±0.18
		Z5		4.83±0.17	5.54±0.12	5.65±0.12	4.87±0.17

1) 不同的小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。Different lowercase letters indicate significant difference at  $P < 0.05$ .

但是对于对照来说, 它们没有明显变化。因此, 打顶后施用外源植物生长调节物质 YCL2 和 Z5 不会影响白肋烟总氮、总糖、氯和钾的含量, 这说明外源植物生长调节物质 YCL2 和 Z5 具有很高的专用性, 这为 YCL2 和 Z5 在烟草农业上推广应用提供了一个可靠的依据。

打顶对于烟草生产来说是一个必不可少的农艺措施, 但是打顶会破坏生长素的合成中心, 降低烟草植株中生长素的含量, 激活与烟碱合成相关的关键酶活性, 导致烟碱的大量合成<sup>[22-23]</sup>, 而高烟碱含量将会影响烟草的安全性及吃味。打顶时施用 YCL2 和 Z5, 一方面能够增加烟草植株内生长素的含量, 一定程度地抑制受伤信号的传导; 另一方面 YCL2 和 Z5 的主要成分 IAA、NAA 和 SA 能够作为负信号物质传导到根中<sup>[1, 24]</sup>, 抑制烟碱合成过程中鸟氨酸脱羧酶 (ODC) 和精氨酸脱羧酶 (ADC) 的活性, 降低烟碱的合成。此外, 自从 MH 被禁止在烟草上施用以来, 在农业上还没有一种能够有效抑制烟碱含量的推广措施<sup>[10-12]</sup>。本试验中 IAA、NAA 和 SA 是植物内源激素, 一方面由于用量比较少; 另一方面由于这类物质作为信号物质起作用快而且容易分解, 不会因为残留对环境造成影响。因此, 2 种外源植物

生长调节物质降低烟草烟碱含量有很好的推广应用前景。

### 参 考 文 献

[1] SHI Q M, LI C J, ZHANG F S. Nicotine synthesis in *Nicotiana tabacum* L. induced by mechanical wounding is regulated by auxin[J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(11): 2899-2907.

[2] 中国农业科学院烟草研究所. 中国烟草栽培学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.

[3] 储刘专, 黄树立, 孔伟, 等. 绿肥翻压利用对于旱年份烤烟生长发育的促进作用[J]. 华中农业大学学报, 2011, 30(3): 337-341.

[4] 杨天沛, 王定斌, 王廷清, 等. 不同采收成熟度对红花大金元烤后烟叶质量的影响[J]. 湖北农业科学, 2012(1): 94-97.

[5] 李仕良, 刘有才, 徐建平, 等. 不同施肥方式对初烤烟叶主要化学成分的影响[J]. 湖北农业科学, 2011(12): 2407-2408.

[6] YASUMATSU N. Studies on the chemical regulation of alkaloid biosynthesis in tobacco plants. II. inhibition of alkaloid biosynthesis by exogenous auxin[J]. Agricultural Biology and Chemistry, 1967, 31: 1441-1447.

[7] ATKINSIN W O, KASPERBAUER J. Influence of sublethal foliar application of 2, 4-D on burley tobacco yield and composition[J]. Agronomy Journal, 1970, 62(3): 421-424.



- [8] 刘华山,韩锦峰,杨素勤. 丙二酸对白肋烟烟碱含量的影响[J]. 中国烟草学报, 2000, 6(3): 47-48.
- [9] 徐晓燕,王松华,武雪萍. 施肥及生长调节剂对烟碱和钾含量的影响[J]. 山西农业大学学报, 2002(1): 18-22.
- [10] CUI M W, HAROLD R B, LOWELL P B, et al. Effect of maleic hydrazide application on accumulation of tobacco-specific nitrosamines in air-cured burley tobacco[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1994, 42(12): 2912-2916.
- [11] 程新胜,雷正林. 几种烟草抑芽剂的应用效果研究[J]. 农药, 2001, 40(3): 27-30.
- [12] SELTMANN S T, YELVENON H F. Residues of MH flumetralin and butralin on flue-cured tobacco[J]. Tobacco Science, 1994(5): 25-29.
- [13] 杨春雷,杨树,杨锦鹏,等. 一种在烟草田间栽培中使用的烟叶降碱剂: 中国, CN 101548673A[P]. 2009-05-12.
- [14] 赵福庚,刘友良. 精氨酸脱羧酶和谷氨酰胺转移酶活性的测定方法[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(5): 442-445.
- [15] 赵福庚,王汉忠,王晓云,等. 花生幼苗内精氨酸脱羧酶的初步研究[J]. 山东农业大学学报, 1997, 28(1): 21-26.
- [16] 李恩,宁黔冀,李超堃,等. 高效液相色谱法测定肝组织鸟氨酸脱羧酶活性[J]. 新乡医学院学报, 2003, 20(6): 395-397.
- [17] 中华人民共和国烟草行业标准. YC/T 160—2002 烟草及烟草制品总植物碱的测定——连续流动法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [18] 李春丽,毛绍春. 烟叶化学成分及分析[M]. 昆明: 云南大学出版社, 2007.
- [19] SHIGENOBU M, YOKO T, MASAO N C, et al. Changes in the activities of ornithine decarboxylase, putrescine N-methyltransferase and N-methylputrescine oxidase in tobacco roots in relation to nicotine biosynthesis[J]. Plant & Cell Physiol, 1973, 14(1): 103-110.
- [20] 高林. 白肋烟成熟及调制期间生理生化指标的动态变化及其与品质关系的研究[D]. 武汉: 华中农业大学图书馆, 2005.
- [21] 陆景陵. 植物营养学[M]. 2版. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.
- [22] 韩锦峰. 烟草栽培生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [23] 韩富根,张凤侠,刘士亮,等. 外源植物生长调节物质对烤烟上部叶生长发育及化学成分的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(2): 142-147.
- [24] BALDWIN I T, SCHMELZ E A, OHNMEISS T E. Wound-induced changes in root and shoot jasmonic acid pools correlate with induced nicotine synthesis in *Nicotiana sylvestris* ssp. *gazzini* and *comes*[J]. Journal of Chemical Ecology, 1994, 20(8): 2139-2157.

## Effects of spraying exogenous YCL2 and Z5 on nicotine content and two key enzymes regulating nicotine synthesis in burley tobacco

LIANG Si-wei<sup>1</sup> YANG Jin-peng<sup>2</sup> YU Jun<sup>2</sup> XU Fang-sen<sup>1</sup> YANG Chun-lei<sup>2</sup>

1. Microelement Research Center, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China;

2. Burley Tobacco Experimental Station of CNTC, Wuhan 430030, China

**Abstract** A pot experiment was carried out to study the effect of spraying exogenous substances YCL2 and Z5 after topping on the nicotine content, enzymatic activity of arginine decarboxylase and ornithine decarboxylase regulating the metabolism of nicotine, and total nitrogen, total sugar, chlorine, potassium. The results showed that spraying YCL2 and Z5 could significantly reduce the nicotine content with few influence on the other chemical qualities. With application of exogenous substance reducing the activity of arginine decarboxylase and ornithine decarboxylase, YCL2 decreased nicotine content by 20.47% in upper leaves, and Z5 decreased 34.36% and 32.38% in upper and middle leaves, respectively. It indicated that the effect of spraying YCL2 and Z5 on reducing nicotine content may be significantly related with its roles in decreasing the activity of arginine decarboxylase and ornithine decarboxylase. It would be one potential pathway to control nicotine content in burley tobacco production.

**Key words** burley tobacco; exogenous substances; nicotine content; arginine decarboxylase; ornithine decarboxylase