

# 烤烟烘烤过程淀粉降解与糖分转化途径及调控

孙敬权, 唐经祥, 任四海 (安徽省农业科学院烟草研究所, 安徽合肥 230031)

**摘要** 分析并绘制了烤烟烘烤过程淀粉降解与糖分转化的路径, 阐明了淀粉在叶绿体内降解的主要产物为麦芽糖, 麦芽糖在细胞质内转化合成蔗糖, 蔗糖在液泡内转化为葡萄糖和果糖。该路径的阐明为烟叶烘烤过程淀粉降解与糖分转化调控提供了依据。

**关键词** 烤烟; 烘烤; 淀粉降解; 糖分转化

**中图分类号** S572; TS44+1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)19-0101-03

## Pathway of Starch Breakdown and Sugar Translation in Tobacco Leaves During Flue-curing and Their Regulation

SUN Jing-quan, TANG Jing-xiang, REN Si-hai (Tobacco Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031)

**Abstract** This paper described the pathway of starch breakdown and sugar translation in tobacco leaves during flue-curing. Maltose is the major form of carbon exported from the chloroplast. Sucrose is made by sucrose phosphate synthase in the cytosol. The hydrolysis of sucrose yield fructose and glucose in the vacuole. The expound of the pathway provided the basis for regulation of starch breakdown and sugar translation in tobacco leaves during flue-curing.

**Key words** Flue-cured tobacco; Flue-curing; Starch breakdown; Sugar translation

烤烟在烘烤过程中, 累积于鲜烟叶内的淀粉(占干重25%~40%)大部分被降解, 并主要以果糖、葡萄糖和蔗糖等累积于初烤烟叶内。研究表明, 烟叶内的还原糖(主要为果糖和葡萄糖等)与氨基酸等发生的美拉德反应是烟叶致香物质重要来源, 可见, 淀粉降解及糖分转化的程度显著影响烟叶的品质。而且, 淀粉对烟叶质量具有负面影响<sup>[1]</sup>, 其含量已经成为评价烤后烟叶质量的重要限制性指标之一。研究还表明, 与氨基酸等发生美拉德反应可产生致香物质的糖主要为果糖和葡萄糖等。可见, 烘烤过程烟叶内蔗糖若未能充分转化为果糖和葡萄糖显然不利于烟叶增香。另外, 累积于初烤烟叶内的几种主要糖分, 其吸湿保湿性能差异也很大, 果糖最强, 葡萄糖居中, 蔗糖较弱。烘烤过程将烟叶内的蔗糖充分转化为果糖和葡萄糖对烟叶保润也有利。因此, 降低初烤烟叶淀粉和蔗糖含量是烤烟烘烤重要的研究课题。

为实现烟叶烘烤过程淀粉充分降解和糖分充分转化, 首先要理清烤烟烘烤过程中淀粉降解与糖分转化的途径并弄清其关键调控因素。然而, 至今尚缺少对淀粉降解与糖分转化整个途径的完整阐述, 该研究结合植物叶片淀粉降解的共性规律对此做较为详细的分析和概述。

## 1 烤烟烘烤过程淀粉降解与糖分转化途径

### 1.1 叶绿体内淀粉的降解与转运

分析认为, 采收后装入烤房内烘烤的烟叶, 其淀粉降解与夜间植物叶片淀粉降解有着相似的特性。21世纪初, 人们还在用禾谷类作物种子胚乳淀粉降解过程解释叶片叶绿体内的淀粉降解过程。但随着分子生物学技术在植物叶绿体内淀粉降解方面的研究应用, 科学家们逐步发现叶片叶绿体内的淀粉降解过程与禾谷胚乳内的淀粉降解过程完全不同。特别是麦芽糖转运子基因(*mex1*)的发现, 彻底更正了过去对叶绿体内淀粉降解的认

识。Niittylä等<sup>[2]</sup>证明了麦芽糖转运子对于叶片淀粉降解的必要性。现今, 科学家们不仅证明了从叶绿体内转运出来的淀粉降解产物主要是麦芽糖, 而且还基本弄清了叶绿体内淀粉降解的途径。Zeeman等<sup>[3-4]</sup>对叶片叶绿体内淀粉降解进行过较为详细的描述。

依据已有的研究成果, 笔者将叶绿体内淀粉降解及其主要产物的转运过程简化为以下5个步骤: ①淀粉磷酸化<sup>[5-7]</sup>; ②磷酸化的淀粉粒逐层降解<sup>[8-9]</sup>; ③线性磷酸葡聚糖脱磷酸并降解<sup>[10-11]</sup>; ④低聚麦芽糖降解<sup>[12]</sup>; ⑤麦芽糖转运出叶绿体<sup>[13-14]</sup>。Yu等<sup>[5]</sup>、Baunsgaard等<sup>[6]</sup>、Rittea等<sup>[7]</sup>研究表明, 淀粉磷酸化是叶片淀粉降解的前提, 编码 $\alpha$ -葡聚糖水二激酶和磷酸葡聚糖水二激酶的2个基因任何1个突变或被敲除都会导致叶片淀粉不能被降解。王怀珠等<sup>[15]</sup>研究也认为, 烟叶烘烤过程中, 淀粉降解是淀粉酶和淀粉磷酸化酶综合作用的结果, 并且鲜烟叶中淀粉磷酸化酶活性较高。Scheidig等<sup>[16]</sup>、Yu等<sup>[17]</sup>研究认为, 淀粉降解受光调控, 磷酸化的淀粉在叶片处于黑暗环境中很快开始降解。虽能被 $\alpha$ -淀粉酶、极限糊精酶、 $\beta$ -淀粉酶3条途径分别不同程度地降解, 但编码 $\alpha$ -淀粉酶、极限糊精酶基因被敲除对淀粉降解速度影响不大, 而编码 $\beta$ -淀粉酶的基因被敲除则导致淀粉过量累积。宫长荣等<sup>[18]</sup>研究也表明, 烟叶烘烤过程中,  $\beta$ -淀粉酶活性最高, 且同工酶活性和生理生化酶活性测定结果相一致。由此可见, 烟叶内的淀粉主要是通过 $\beta$ -淀粉酶降解的。Weise等<sup>[13]</sup>研究认为, 在叶绿体内淀粉降解的主要产物为麦芽糖, 当叶绿体内淀粉降解转化为麦芽糖后, 在麦芽糖转运子的作用下, 麦芽糖被从叶绿体内转运至细胞质内。

### 1.2 细胞质内蔗糖的合成

被转运至细胞质内的麦芽糖逐步转化合成蔗糖, 其过程可简化为以下6个步骤: ①麦芽糖转化为葡萄糖等; ②葡萄糖转化为6-磷酸葡萄糖; ③6-磷酸葡萄糖分别转化为6-磷酸果糖和1-磷酸葡萄糖; ④1-磷酸葡萄糖转化为尿苷二磷酸葡萄糖; ⑤尿苷二磷酸葡萄糖

**基金项目** 安徽省烟草公司2013年科技项目(ahyckj2013037)。

**作者简介** 孙敬权(1964—), 男, 安徽无为, 研究员, 从事烟草烘烤调制研究。

**收稿日期** 2017-04-26

和6-磷酸果糖合成磷酸蔗糖;⑥磷酸蔗糖脱磷酸转化为蔗糖。麦芽糖被转运至细胞质内以后,在麦芽糖转葡萄糖基酶作用下,被转化为葡萄糖。Lu等<sup>[19]</sup>研究了麦芽糖转葡萄糖基酶将麦芽糖转化为葡萄糖等的作用。对于在细胞质内由葡萄糖合成蔗糖的研究较多,合成途径也比较清楚。Veramendi等<sup>[20]</sup>证明了Hexokinase 1是叶片叶绿体内淀粉降解过程中重要的一环,若Hexokinase 1活性被抑制将导致叶绿体内淀粉不能被充分降解并过量积累。在细胞质内合成的蔗糖,其去向主要取决于消耗碳水化合物的器官或组织对蔗糖需求的大小。当需求大时,细胞质内形成的蔗糖优先向这些器官或组织输出,但当其对蔗糖需求降低时(如去库处理等),细胞质内形成的蔗糖则通过跨膜运输进入液泡贮藏。成熟烟叶之所以能够累积高达干重25%~40%的淀粉,也与烟叶生产采取打顶措施有关。在田间,白天光合作用累积淀粉,夜晚因打顶(去库处理)导致降解和转运较少,淀粉在叶片内逐渐积累。对于采收后烘烤过程中的烟叶,淀粉降解的中间产物(如麦芽糖、葡萄糖等)经转化在细胞质内合成蔗糖再通过跨膜运输进入液泡。

**1.3 蔗糖转运及液泡内蔗糖水解** 研究表明,蔗糖是通过质子反向协同运输转运至液泡的。转运至液泡内的蔗糖在酸性转化酶作用下转化为果糖和葡萄糖。HEINEKE等<sup>[21]</sup>研究证明,烟叶内蔗糖主要存在于细胞质内,而高达98%的葡萄糖、果糖存在于液泡中。Klann等<sup>[22-23]</sup>研究也表明,己糖积累型的栽培番茄在果实成熟过程中液泡蔗糖转化酶的活性大幅度增强,但蔗糖积累型的野生番茄品种在果实成熟过程中其活性一直维持在较低的水平。当液泡蔗糖转化酶的表达被抑制后,栽培番茄品种果实从己糖积累型转化为蔗糖积累型。Yau等<sup>[24]</sup>研究也表明,将一个2.5 kb长度DNA片段插入到染色体上以消除液泡acid soluble invertase isozyme II转录将会导致蔗糖在液泡内累积。依据上述研究成果得出,液泡内果糖、葡萄糖主要来自于蔗糖的转化。

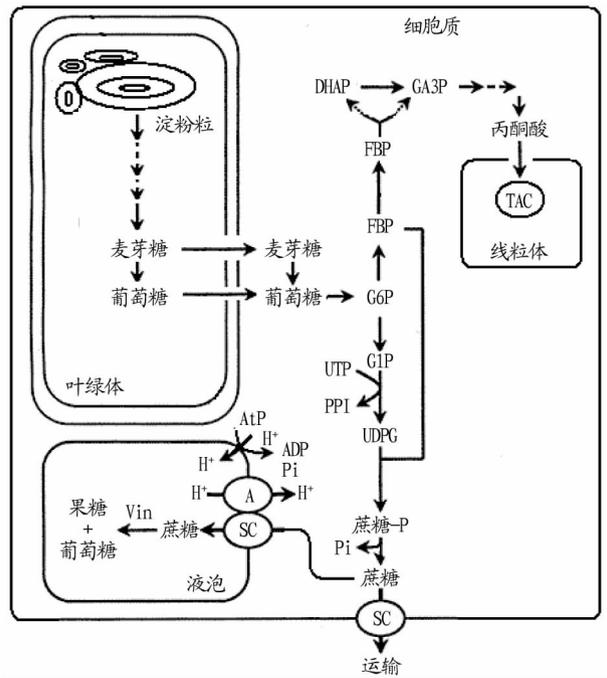
综上,烤烟烘烤过程淀粉降解与糖分转化途径可简要概括如图1所示。

## 2 烤烟烘烤过程淀粉降解与糖分转化调控

烤烟烘烤过程淀粉降解与糖分转化途径的理清,为分析和查找烟叶烘烤工艺存在的问题提供了理论依据,对淀粉降解与糖分转化进行调控具有重要指导作用。

叶绿体内的淀粉主要是通过 $\beta$ -淀粉酶途径降解的,而 $\beta$ -淀粉酶活性受麦芽糖浓度调控<sup>[25]</sup>。而且,抑制编码己糖激酶活性及Hex-1基因表达也将严重阻碍淀粉的降解<sup>[26]</sup>。其机理则是抑制编码己糖激酶活性或Hex-1基因表达所造成的高浓度葡萄糖直接抑制细胞质糖苷转移酶DPE2活性,进而提高麦芽糖浓度抑制 $\beta$ -淀粉酶活性,导致淀粉累积<sup>[26]</sup>。可见,对于烘烤过程中的烟叶,在淀粉未能充分降解之前,过早和过度失水导致细胞质和叶绿体内糖浓度提高,显然对淀粉降解不利。

另外,己糖激酶Hex-1的活性与ATP供给有关,即为促进淀粉充分降解,需要保留适当的水分来维持细胞呼吸强



注:G6P为6-磷酸葡萄糖;G1P为1-磷酸葡萄糖;蔗糖-P为磷酸蔗糖;F6P为6-磷酸果糖;UDPG为尿苷二磷酸葡萄糖

Note:G6P is glucose-6-phosphate;G1P is glucose-1-phosphate;saccharose-P is sucrose phosphate;F6P is fructose-6-phosphate;UDPG is uridine diphosphate glucose

图1 烤烟烘烤过程淀粉降解与糖分转化的途径

Fig. 1 Pathway of starch breakdown and sugar translation in tobacco leaves during flue-curing

度。官长荣等<sup>[27]</sup>研究也认为,环境湿度较高的阶段烟叶内淀粉有着最大量和最快速度的降解,湿度降到70%以下时,淀粉含量趋于稳定。烟叶水分降低到50%左右时淀粉降解变缓,含量趋于稳定。另据官长荣等<sup>[28]</sup>研究表明,烘烤过程中在35~38℃变黄,并在烟叶变黄后延长12h和在42℃条件下调萎12h,有利于淀粉降解和烟叶品质改善。龚顺禹等<sup>[29]</sup>研究也认为,采用低温低湿变黄,慢速升温定色的烘烤环境,烟叶内淀粉酶和淀粉磷酸化酶活性较高,有利于烟叶淀粉的降解。低温低湿变黄:变黄期干球温度32~38℃,相对湿度74%~81%,待烟叶基本全黄,然后以0.5℃/h升温到54~55℃完成定色。

从该文概述的糖分转化途径可知,累积于初烤烟叶内的葡萄糖、果糖主要来自于蔗糖在液泡内的转化。也就是说,烟叶烘烤过程中,糖分转化的方向是蔗糖先在细胞质内由麦芽糖、葡萄糖逐步合成再被转运至液泡内,然后蔗糖再被水解为葡萄糖、果糖。这一过程很好地解释了烤后烟叶内葡萄糖和果糖含量基本相当(或差别不大)的现象。糖分转化方向的阐明为解决烘烤过程中对糖分转化相关酶促反应是促进还是控的问题提供了理论依据。

为降低初烤烟叶蔗糖含量,烘烤过程应该充分促进蔗糖向葡萄糖、果糖转化。然而,蔗糖进入液泡是跨膜主动运输过程,需要能量的支持。也就是说,细胞质内合成的蔗糖能否被充分地转运至液泡并转化为果糖和葡萄糖取决于细胞

的呼吸作用强度,即与烟叶含水量有关。过早和过度失水将导致细胞呼吸减弱或终止,减低甚至阻止蔗糖向液泡转运而累积于细胞质中,结果是初烤烟叶蔗糖偏高。

### 3 结语

就目前生产而言,普遍采用强制通风的密集烘烤,这种烘烤方式为烤烟烘烤提供了强大的调控能力,为烤烟烘烤过程保水充分变黄提供了保障。但若烘烤工艺执行不当,也可带来明显的负面影响。因此,在当前采用强制通风密集烘烤的情况下,强调防止烟叶烘烤前中期过度失水更具有现实意义。分析认为,烤后烟叶淀粉残留量高、吸湿保湿能力差、僵硬光滑、油润性差等也都与此有关。要纠正“片黄则干”错误观念,确保将烟叶烤香、烤润。

### 参考文献

- [1] 左天觉. 烟草的生产、生理和生物化学[M]. 朱尊权,等译. 上海:上海远东出版社,1993.
- [2] NIITYLÄ T, MESSERLI G, TREVISAN M, et al. A previously unknown maltose transporter essential for starch degradation in leaves[J]. *Science*, 2004, 303(5654): 87-88.
- [3] ZEEMAN S C, SMITH S M, SMITH A M. The breakdown of starch in leaves[J]. *New phytologist*, 2004, 163(2): 247-261.
- [4] ZEEMAN S C, DELATTE T, MESSERLI G, et al. Starch breakdown: Recent discoveries suggest distinct pathways and novel mechanisms[J]. *Functional plant biology*, 2007, 34(6): 465-473.
- [5] YU T, KOFLER H, HÄUSLER R, et al. The arabidopsis *sex1* mutant is defective in the R1 protein, a general regulator of starch degradation in plants, and not in the chloroplast hexose transporter[J]. *The plant cell*, 2001, 13: 1907-1918.
- [6] BAUNSGAARD L, LUTKEN H, MIKKELSEN R, et al. A novel isoform of glucan, water dikinase phosphorylates pre-phosphorylated  $\alpha$ -glucans and is involved in starch degradation in *Arabidopsis*[J]. *The plant journal*, 2005, 41: 595-605.
- [7] RITTEA G, HEYDENREICH M, MAHLOWA S, et al. Phosphorylation of C6- and C3-positions of glucosyl residues in starch is catalysed by distinct dikinases[J]. *FEBS letters*, 2006, 580(20): 4872-4876.
- [8] DELATTE T, UMHANG M, TREVISAN M, et al. Evidence for distinct mechanisms of starch granule breakdown in plants[J]. *The journal of biological chemistry*, 2006, 281(17): 12050-12059.
- [9] STREB S, EICKE S, ZEEMAN S C. The simultaneous abolition of three starch hydrolases blocks transient starch breakdown in *Arabidopsis*[J]. *The journal of biological chemistry*, 2012, 287(50): 41745-41756.
- [10] KÖTTING O, SANTELLA D, EDNER C, et al. STARCH-EXCESS4 is a laforin-like phosphoglucan phosphatase required for starch degradation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The plant cell*, 2009, 21(1): 334-346.
- [11] HEJAZI M, FETTKE J, KÖTTING O, et al. The laforin-like dual-specificity phosphatase SEX4 from *Arabidopsis* Hydrolyzes both C6- and C3-phosphate esters introduced by starch-related dikinases and thereby affects phase transition of  $\alpha$ -glucans[J]. *Plant physiology*, 2010, 152(2): 711-

722.

- [12] CRITCHLEY J H, ZEEMAN S C, TAKAHA T, et al. A critical role for disproportionating enzyme in starch breakdown is revealed by a knock-out mutation in *Arabidopsis*[J]. *The plant journal*, 2001, 26(1): 89-100.
- [13] WEISE S E, WEBER A P M, SHARKEY T D. Maltose is the major form of carbon exported from the chloroplast at night[J]. *Planta*, 2004, 218(3): 474-482.
- [14] CHO M H, LIM H, SHIN D H, et al. Role of the plastidic glucose translocator in the export of starch degradation products from the chloroplasts in *Arabidopsis thaliana*[J]. *New phytologist*, 2011, 190(1): 101-112.
- [15] 王怀珠, 杨焕文, 郭红英. 烘烤条件对烤烟淀粉降解及相关酶活性的影响[J]. *中国烟草学报*, 2005, 11(5): 35-38.
- [16] SCHEIDIG A, FROHLICH A, SCHULZE S, et al. Downregulation of a chloroplast-targeted  $\beta$ -amylase leads to a starch-excess phenotype in leaves[J]. *The plant journal*, 2002, 30(5): 581-591.
- [17] YU T S, ZEEMAN S C, THORNEYCROFT D, et al.  $\alpha$ -amylase is not required for breakdown of transitory starch in *Arabidopsis leaves*[J]. *The journal of biological chemistry*, 2005, 280(11): 9773-9779.
- [18] 官长荣, 袁红涛, 陈江华. 烤烟烘烤过程中烟叶淀粉酶活性变化及色素降解规律的研究[J]. *中国烟草学报*, 2002, 8(2): 16-20.
- [19] LU Y, SHARKEY T D. The role of amyloamylase in maltose metabolism in the cytosol of photosynthetic cells[J]. *Planta*, 2004, 218(3): 466-473.
- [20] VERAMENDI J, ROESSNER U, RENZ A, et al. Antisense repression of hexokinase 1 leads to an overaccumulation of starch in leaves of transgenic potato plants but not to significant changes in tuber carbohydrate metabolism[J]. *Plant physiology*, 1999, 121(1): 123-133.
- [21] HEINEKE D, WILDENBERGER K, SONNEWALD U, et al. Accumulation of hexoses in leaf vacuoles: Studies with transgenic tobacco plants expressing yeast-derived invertase in the cytosol, vacuole or apoplast[J]. *Planta*, 1994, 194(1): 29-33.
- [22] KLANN E M, CHETELAT R T, BENNETT A B. Expression of acid invertase gene controls sugar composition in tomato (*Lycopersicon*) Fruit[J]. *Plant physiol*, 1993, 103(3): 863-870.
- [23] KLANN E M, HALL B, BENNETT A B. Antisense acid invertase (TIV1) gene alters soluble sugar composition and size in transgenic tomato fruit[J]. *Plant Physiol*, 1996, 112(3): 1321-1330.
- [24] YAU Y Y, SIMON P W. A 2.5-kb insert eliminates acid soluble invertase isozyme II transcript in carrot (*Daucus carota* L.) roots, causing high sucrose accumulation[J]. *Plant molecular biology*, 2003, 53(1): 151-162.
- [25] LIZOTTE P A, HENSON C A, DUKE S H. Purification and characterization of pea epicotyl  $\beta$ -amylase[J]. *Plant Physiol*, 1990, 92, 36(7): 1311-1327: 615-621.
- [26] KIM Y, HEINZEL N, GIESE J, et al. A dual role of tobacco hexokinase 1 in primary metabolism and sugar sensing[J]. *Plant, cell and environment*, 2013, 36(7): 1311-1327.
- [27] 官长荣, 袁红涛, 陈江华. 烘烤过程中环境湿度和烟叶水分与淀粉代谢动态[J]. *中国农业科学*, 2003, 36(2): 155-158.
- [28] 官长荣, 毋丽丽, 袁红涛, 等. 烘烤过程中变黄条件对烤烟淀粉代谢的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2009, 37(1): 117-121.
- [29] 龚顺禹, 杨焕文, 王怀珠, 等. 烟叶中淀粉降解酶活性与烘烤温湿度的关系研究[J]. *华北农学报*, 2005, 20(4): 17-20.

## 科技论文写作规范——缩略语

采用国际上惯用的缩略语。如名词术语 DNA(脱氧核糖核酸)、RNA(核糖核酸)、ATP(三磷酸腺苷)、ABA(脱落酸)、ADP(二磷酸腺苷)、CK(对照)、CV(变异系数)、CMS(细胞质雄性不育性)、IAA(吲哚乙酸)、LD(致死剂量)、NAR(净同化率)、PMC(花粉母细胞)、LAI(叶面积指数)、LSD(最小显著差)、RGR(相对增长率)、单位名缩略语 IRRI(国际水稻研究所)、FAO(联合国粮农组织)等。对于文中有些需要临时写成缩写的词(如表及图中由于篇幅关系以及文中经常出现的词而写起来又很长时),则可取各主要词首字母写成缩写,但需在第一次出现处写出全称,表及图中则用注解形式在下方注明,以便读者理解。