

烘烤过程中烟叶霉变研究进展

苏家恩¹, 典瑞丽², 陈二龙^{3*}, 范志勇¹, 朱凯¹, 王德勋¹, 王新中¹, 孙军伟¹ (1. 云南省烟草公司大理州公司, 云南大理 671000; 2. 中国烟草总公司职工进修学院, 河南郑州 450008; 3. 河南农业大学烟草学院, 河南郑州 450002)

摘要 介绍烘烤过程中烟叶霉变的表现与研究进展, 指出烘烤过程中烟叶霉变的危害及应对措施, 提出针对烘烤过程中烟叶霉变研究的新方向, 为烘烤过程中烟叶霉变的研究及防控提供参考。

关键词 烘烤; 烟叶; 霉变; 研究方向

中图分类号 TS41⁺1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)19-0016-03

Research Advances in Tobacco Leaf Mold during Baking

SU Jia-en¹, DIAN Rui-li², CHEN Er-long³ et al (1. Dali Tobacco Company of Yunnan Province, Dali, Yunnan 671000; 2. Staff Development Institute of China National Tobacco Corporation, Zhengzhou, Henan 450008; 3. College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002)

Abstract This paper introduced the performance and research progress of tobacco mold during baking process, pointed out the harm and countermeasures of tobacco leaf mold during baking process, and put forward the new direction for the research of tobacco leaf mold during baking process, provided a reference for the study of tobacco leaf mildew in curing process and prevention.

Key words Baking; Tobacco leaf; Mildew; Research direction

烟叶在烘烤过程中烟叶霉变主要是指烘烤过程中变黄中期至定色前期烟叶叶基部主脉腐烂和霉菌的生长繁殖。烘烤过程中烟叶在变黄期和定色前期属于活体, 期间烟叶处于高温和干旱胁迫, 促使烟叶变黄、变香和变干, 但胁迫不当, 造成烟叶组织损伤和坏死, 进而为微生物的入侵创造条件。烟叶自身的水分和营养物质为微生物的生长繁殖提供保障。近年来, 关于烟叶霉变的研究大多集中在烤后烟叶于储存期间的霉变, 且研究的切入点主要为储存期的温度和相对湿度, 致使烟叶霉变的微生物等, 但对于烘烤期间烟叶霉变发生的研究甚少。由于烘烤过程中烟叶仍可进行代谢活动, 为此, 笔者对烘烤过程中烟叶霉变的表现和研究进展进行了概述, 并提出研究烘烤过程中烟叶霉变的新方向, 为烘烤中烟叶霉变的防控提供依据。

1 烘烤过程中烟叶霉变的表现

烘烤过程中烟叶霉变主要发生在小气候较为突出和烘烤设备不足的区域, 如江西省、福建省和云南省等局部区域^[1-2], 其烘烤过程中烟叶霉变的原因主要为两大部分: 第一部分为烟草在大田期长期处于多雨寡日照, 造成烟草营养物质积累不充足, 抗性减弱, 此外高温高湿的环境适宜于微生物的生长繁殖; 第二部分为烘烤过程中的烘烤设备不足, 为微生物的生长繁殖营造适宜的环境条件, 烘烤工艺模式化, 造成烟叶组织损伤, 且不能改善适宜于微生物生长繁殖的局部区域。烘烤中烟叶霉变现象主要表现为变黄中期主脉变褐, 且伴随少量的霉菌; 变黄后期霉菌在烟叶叶基部主脉大量繁殖, 且主脉腐烂较为严重; 定色前期霉菌生长繁殖受到抑制, 而主脉腐烂仍然继续, 但腐烂趋势逐渐减弱, 之后腐烂终止。烟叶霉变在烤房中的发生位置主要是低温高湿层, 在

叶片上的发生位置主要为主脉和支脉; 易霉变烟叶主脉皮层的细胞结构易破损, 受损程度越大, 其主脉越易发生霉变。烟叶在烘烤过程中若发生霉烂症状后, 烘烤损失会增加 2.3%~3.7% (其中烟叶质量损失 0.76%~0.92%, 烟叶等级降低损失 1.54%~2.78%), 平均至少损失 1 552.5 元/hm²。

2 烘烤过程中烟叶霉变的研究进展

烟叶在烘烤中发生霉变具有一定的规律可循, 陈二龙等^[3]研究表明, 霉变规律的发生与周围环境有关。许大风等^[4]分析指出, 烟叶霉变发生时间与周围空气中相对湿度有关, 其相对湿度越大, 烟叶发生霉变的时间越短。黄福新等^[5]研究得出, 烟叶开始发生霉变的时间与其所处环境的温度表现为抛物线的线性关系, 最适温度条件下烟叶发生霉变的时间最短, 低于最适温度不利于霉变的发生, 高于最适温度抑制烟叶霉变。彭清云等^[6]、朱桂宁^[7]认为, 影响烟叶霉变发生的重要因素是其周围环境的温度和湿度; 曾婷英等^[8]则认为, 致使烟叶发生霉变的最重要因素是湿度, 并且陈二龙等^[3]指明, 烟叶所处区域的相对湿度越大, 则烟叶霉变程度越严重。

烟叶在烘烤过程中, 其发生霉变的趋势有层次和阶段划分, 王涛^[9]研究表明, 烤房中烟叶霉变与装烟层次有关, 低温层至高温层烟叶的霉变程度呈现逐渐减弱的趋势。曾婷英等^[8]分析指出, 烘烤过程中的变黄前期, 烟叶开始发生霉变; 变黄中期, 烟叶的霉变发生率快速增加; 变黄后期, 其霉变发生率逐渐减缓; 强调烤房内烟叶处于 36~40℃和 75%~85% 相对湿度中, 容易导致霉菌在烟叶表面滋生。

有效防治烘烤过程中烟叶霉变的措施较少, 苏家恩等^[1]利用药剂防控烘烤过程中烟叶霉变, 筛选出百菌清、多菌灵和甲酸锰锌防控烟叶霉变; 宋朝鹏等^[10]采用振荡式内循环、振荡式运动和阶段式单向缓排湿, 有效控制烘烤过程中烟叶霉变。

3 烘烤过程中烟叶霉变的研究方向

3.1 鲜烟叶的宏观特性判定烘烤中烟叶霉变特性 烤烟在

基金项目 中国烟草总公司云南省公司资助项目(2016YN10, 2015YN20)。
作者简介 苏家恩(1976—), 男, 云南大理人, 高级农艺师, 硕士, 从事烟叶烘烤技术及烤房研究和推广工作。* 通讯作者, 硕士研究生, 研究方向: 烟草调制加工。
收稿日期 2017-12-20; **修回日期** 2018-03-20

烘烤过程中的霉烂发生与外在环境有关,同时与自身的内在成分有关(组织水、水活度、主脉表皮质地和中柱与茎截面的纵横比)。水活度与酶促反应、非酶反应和微生物活度具有一定关系^[11],水活度大于某一临界值时,特定的微生物才能生长,一般说来,大多数细菌为 0.94~0.99,大多数霉菌为 0.80~0.94,大多数耐盐菌为 0.75,耐干燥霉菌和耐高渗透压酵母 0.60~0.65;当水活度低于 0.60 时,绝大多数微生物无法生长^[12],因此烟叶主脉表皮的水活度反映烟叶是否易发生霉变。植物在干旱的条件下,细胞壁木质化程度增加,角质层加厚,致使质地增加,起到抗挤压、机械破坏和抵抗微生物的侵袭等^[13],表皮质地越大,抗微生物侵染能力越强^[14],因此通过制定一个合理的表层质地标准,作为判断烟叶是否易霉烂的指标是可行的。中柱包括木质部(水分运输)、韧皮部(营养物质运输)和髓(物质储存)^[15];木质部是水分运输的主要组织,土壤中水分含量越大,维管柱的直径相对较小,水分运输阻力增加,不利于烘烤过程中烟叶主脉水分的运输,为微生物的生长繁殖提供有力的条件^[16-19],通过中柱反映木质部,可作为判断烟叶是否易发生霉变的指标。中柱与茎截面的纵横比在一定程度上反映物质协调性,表现出烟叶对霉烂发生的抗性。

3.2 烘烤过程中霉变烟叶微观结构 植物器官的微形态可反映其品质的特性。江泽慧等^[20]通过研究杉木品质特性与其微观结构的关系,确立了杉木的力学和物理特性与其微观结构的深层次联系;林娇芬等^[21]利用油柿茶的加工研究其组织结构的微观变化,得出主要细胞结构改变对茶叶特性形成的指标;李鸿雁等^[22]研究牧草抗寒性与其叶片微观结构的关系,认为牧草叶片的微观结构可作为衡量其抗寒性的重要指标;任媛媛等^[23]研究阔叶植物抗旱性与其叶片微观结构的关系,筛选出叶片厚度、上表皮厚度和栅栏组织厚度评价植物的抗旱性。目前,通过扫描电镜获得植物组织的微观结构,已成为研究植物品质的新方法^[24-27]。烟草组织微观结构的研究主要集中在大田生育时期,如不同品种^[28]、土壤^[29]、土壤改良方式^[30]和土壤水分^[31]等获得的鲜烟叶进行微观结构的观察。烘烤过程中烟叶霉变的微观结构的研究鲜有报道,而通过研究烘烤中霉变烟叶的微观结构,有利于了解烟叶组织与霉变的关系^[32]。

3.3 烘烤过程中霉变烟叶基因表达

3.3.1 烘烤过程中烟叶热激蛋白 90。烘烤过程中的烟叶在定色的前期和整个变黄均为活体,然而烟叶该过程处于干旱和高温胁迫,使烟叶变黄,若期间胁迫强度过高,造成烟叶组织损伤,且超出自我修复的能力,促使微生物的入侵,使烟叶的品质降低^[33]。上调热激蛋白 90 的表达,可增强烟叶对干旱和高温的适应能力,减少细胞组织损伤,进而避免微生物的入侵,研究烟叶热激蛋白 90 的结构与生物学特性,一方面认识热激蛋白 90 功能的理论意义,另一方面从抗性揭示烟叶霉变特性。热激蛋白 90 是一种属于分子伴侣的二聚体,具有 3 个较为保守的结构域,依次为 C 端结构域(结合底物)、中间结构域和 N 端结构域(结合 ATP)^[34]。植物在干

旱、盐泽和高温等胁迫的条件下,热激蛋白 90 表达量明显增加,通过和非蛋白类物质的相互作用,避免发生蛋白质变性,修复已经变性蛋白,减少细胞组织的损伤^[35-36]。促使热激蛋白 90 表达量增加的主要因素是高温胁迫^[37]。热激蛋白 90 具有行使蛋白空间结构的折叠、初始胁迫信号的传递、底物的活化和激酶等功能^[38-39]。热激蛋白 90 家族成员分布广泛,在真核生物的线粒体、内质网、胞质和叶绿体均有存在^[40]。近年来,关于植物热激蛋白 90 的研究对象主要为小麦、番茄、水稻、大麦和拟南芥^[41-45],目前针对烘烤过程中霉变烟叶的热激蛋白 90 研究较少^[46]。

3.3.2 烘烤过程中烟叶热激蛋白 70。烟叶烘烤是在高温条件下,促进烟叶失水的胁迫过程,而热激蛋白 70 在一定程度上避免烟叶在其逆境条件下损伤。热激蛋白 70 在细胞中分布广泛,通过对其进行定位,主要位于内质网、细胞质、线粒体和叶绿体中^[47]。热激蛋白 70 参与细胞信号的转导或阻止蛋白质发生错误折叠和凝聚^[48]。李慧聪等^[49]研究玉米在高温胁迫下热激蛋白 70 的表达量,结果表明在 42 ℃ 高温诱导下,玉米热激蛋白 70 在 2 h 的表达量最大;张杨等^[50]研究热激蛋白 70 基因在菊花脑中的表达分析,筛选结果表明菊花脑在 42 ℃ 高温诱导下,其表达量在 3 h 达到最高,当热激时间持续到 6 h 时,其基因的表达量快速下调。热激蛋白 70 参与热激反应的前提需要与钙-钙调素结合^[51],此外,热激蛋白 70 行使功能可通过 ADP-苹果酸酶与其形成复合体^[52]。目前,关于烘烤过程中烟草热激蛋白 70 与烟叶霉变的研究鲜见报道。

4 展望

烘烤过程中烟叶霉变极大地损失烟农的收益,且烘烤过程中霉变烟叶的霉菌孢子残留于烟叶上,如果不及及时处理,将致使储存期间烟叶发霉,造成烟叶质量和品种的损失,不利于工业的生产。目前防控烘烤过程中烟叶霉变措施主要从微生物着手,但实际空气中均存在微生物,因此单从微生物着手,防控能力有限。微生物的生长繁殖需要营养物质,而烟叶能为其提供所需,但烟叶自身具有防御机制,抵抗微生物从中获取营养物质,一旦烟叶细胞组织损伤,防御能力下降,或鲜烟叶本身防御机制弱(烟叶素质差),微生物即可入侵烟叶,使烟叶发生霉变。因此,研究烘烤过程中烟叶霉变,应该从两大方面开展,一方面为鲜烟物理特性(宏观特征和微观结构),另一方面为烟叶内部代谢机理(抗性基因表达),进而为防控烘烤过程中烟叶霉变提供依据。

参考文献

- [1] 苏家恩,杨程,米建华,等.红花大金元烟叶烘烤过程中叶柄发霉药剂防治试验[J].中国烟草学报,2010,16(3):64-66.
- [2] 王永栋.烘烤期烟草霉烂病的病因与防治[D].福州:福建农林大学,2016.
- [3] 陈二龙,范志勇,宋朝鹏,等.烘烤期烟叶霉变发生规律及关键影响因素[J].江西农业大学学报,2017,39(5):877-883.
- [4] 许大凤,杨建卿,檀根甲.储烟病害研究及其进展[J].安徽农业科学,2005,33(10):1912-1914.
- [5] 黄福新,周兴华,朱桂宁,等.广西烟仓霉变发生状况调查及主要霉变因素探讨[J].广西农业科学,2007,38(4):411-414.
- [6] 彭清云,易图永.烟叶霉变的原因及其防治研究进展[J].中国农学通报,2007,23(11):146-150.

- [7] 朱桂宁. 广西烟仓主要霉变生物的鉴定、生物学特性及防治研究[D]. 南宁:广西大学, 2005.
- [8] 曾婷英, 顾钢, 张绍升. 烘烤期烟叶霉烂病的病原鉴定[J]. 中国烟草学报, 2014, (04): 65-68.
- [9] 王涛. 烟叶烘烤产生“霉烂病”的原因及防止方法[EB/OL]. (2015-08-24) [2018-01-20]. <http://www.fjycw.com/News/201508/20150824494157.shtml>.
- [10] 宋朝鹏, 陈二龙, 苏家恩, 等. 一种防止气流上升式密集烤房烘烤过程中烟叶霉烂的方法; CN 106418640 A[P]. 2017-02-22.
- [11] 李瑞法, 范光辉, 楚伟. 食品中的微生物控制及其研究进展[J]. 粮食与食品工业, 2014, 21(1): 55-58.
- [12] 连凤, 赵伟, 杨瑞金. 低水分活度食品的微生物安全研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(19): 333-337.
- [13] 赵祥, 董宽虎, 张垚, 等. 达乌里胡枝子根解剖结构与其抗旱性的关系[J]. 草地学报, 2011, 19(1): 13-19.
- [14] 赵祥, 董宽虎, 张垚, 等. 不同居群达乌里胡枝子茎解剖结构与其抗旱性的关系[J]. 草地学报, 2010, 18(5): 615-621.
- [15] 李荣, 姜在民, 张硕新, 等. 木本植物木质部栓塞脆弱性研究新进展[J]. 植物生态学报, 2015, 39(8): 838-848.
- [16] 周洪华, 李卫红. 胡杨木质部水分传导对盐胁迫的响应与适应[J]. 植物生态学报, 2015, 39(1): 81-91.
- [17] 周洪华, 李卫红, 木巴热克·阿尤普, 等. 荒漠河岸林植物木质部导水与栓塞特征及其对干旱胁迫的响应[J]. 植物生态学报, 2012, 36(1): 19-29.
- [18] 胡元森, 王改利, 李翠香, 等. 玉米储藏期霉菌活动及玉米主要品质变化研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2010, 31(3): 16-19.
- [19] 李颖, 张和岑, 马虹新. 植物的中柱类型[J]. 生物学通报, 1964(5): 1-5.
- [20] 江泽慧, 姜笑梅, 周玉成, 等. 杉木微观结构与其品质特性关系模型的一类神经网络建模方法[J]. 林业科学, 2005, 41(4): 133-139.
- [21] 林娇芬, 林河通, 林艺芬, 等. 安溪油桐茶叶加工过程中叶片形态和细胞组织结构变化[J]. 热带作物学报, 2010, 31(9): 1611-1615.
- [22] 李鸿雁, 李志勇, 师文贵, 等. 6 种豆科牧草叶片解剖性状与抗旱性关系研究[J]. 西北植物学报, 2010, 30(10): 1989-1994.
- [23] 任媛媛, 刘艳萍, 王念, 等. 9 种屋顶绿化阔叶植物叶片解剖结构与抗旱性的关系[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2014(4): 64-68.
- [24] 李成奇, 郭旺珍, 张天真. 棉花 4 个栽培种纤维初始发育的比较研究[J]. 作物学报, 2007, 33(8): 1346-1351.
- [25] 张瑞奇, 荣曼, 张守忠, 等. 普通小麦籽粒硬度与胚乳组成及显微结构的关系[J]. 中国农业科学, 2011, 44(9): 1753-1762.
- [26] GOLOLOBOV M Y, BELIKOV V M. Scanning electron microscopy (SEM) of plasteins and their substrates (Short communication) [J]. Molecular nutrition & food research, 1983, 27(2): 7-8.
- [27] WELLS O C, JOY D C. The early history and future of the SEM[J]. Surface & interface analysis, 2006, 38(12/13): 1738-1742.
- [28] 王亚辉, 张树堂, 杨雪彪. 不同成熟烟叶在烘烤过程中的叶片组织结构变化研究[J]. 中国农学通报, 2007, 23(9): 171-175.
- [29] 沈笑天, 谷魏, 牛书金, 等. 不同烟区及土壤改良措施下烟叶显微与超显微结构的动态观察[J]. 中国烟草学报, 2010, 16(3): 36-42.
- [30] 张树堂, 杨雪彪, 王亚辉, 等. 不同成熟度烤烟鲜烟叶的组织结构比较[J]. 烟草科技, 2005(1): 38-40.
- [31] 邱立友, 李富欣, 朝祖龙, 等. 皖南不同类型土壤植烟成熟期烟叶的基因差异表达和显微结构的比较[J]. 作物学报, 2009, 35(4): 749-754.
- [32] 陈二龙, 苏家恩, 范志勇, 等. 烘烤过程中霉变烟叶主脉超微结构的变化[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2017, 43(6): 626-629.
- [33] 官长荣. 烟草调制学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [34] TERASAWA K, MINAMI M, MINAMI Y. Constantly updated knowledge of Hsp90[J]. Journal of biochemistry, 2005, 137(4): 443-447.
- [35] MUKHOPADHYAY I, NAZIR A, SAXENA D K, et al. Heat shock response: hsp70 in environmental monitoring[J]. Journal of biochemical & molecular toxicology, 2003, 17(5): 249-254.
- [36] TIMPERIO A M, EGIDI M G, ZOLLA L. Proteomics applied on plant abiotic stresses: Role of heat shock proteins (HSP) [J]. Journal of proteomics, 2008, 71(4): 391-411.
- [37] SUN W, VAN MONTAGU M, VERBRUGGEN N. Small heat shock proteins and stress tolerance in plants[J]. Biochimica et biophysica acta, 2002, 1577(1): 1-9.
- [38] SHINOZAKI F, MINAMI M, CHIBA T, et al. Depletion of hsp90 beta induces multiple defects in B cell receptor signaling[J]. Journal of biological chemistry, 2006, 281(24): 16361-16369.
- [39] ZUEHLKE A, JOHNSON J L. Hsp90 and co-chaperones twist the functions of diverse client proteins[J]. Biopolymers, 2010, 93(3): 211-217.
- [40] CHEN B, ZHONG D B, MONTEIRO A. Comparative genomics and evolution of the HSP90 family of genes across all kingdoms of organisms[J]. BMC Genomics, 2006, 7(1): 156.
- [41] KOZEKO L G. Changes in heat-shock protein synthesis and thermotolerance of *Arabidopsis thaliana* seedlings resulting from Hsp90 inhibition by geldanamycin[J]. Tsitológia, 2015, 56(6): 419-426.
- [42] MOSHE A, GOROVITS R, LIU Y, et al. Tomato plant cell death induced by inhibition of HSP90 is alleviated by *Tomato yellow leaf curl virus* infection[J]. Molecular plant pathology, 2016, 17(2): 247-260.
- [43] 任月, 韩莹琰, 李婷, 等. 叶用莴苣热激蛋白 90 (LsHsp90) 基因的克隆及其在热激下的表达[J]. 中国农业科学, 2013, 46(16): 3514-3522.
- [44] ZHANG H, LI L H, YE T Z, et al. Molecular characterization, expression pattern and function analysis of the *OsHSP90* family in rice[J]. Biotechnology & biotechnological equipment, 2016, 30(4): 669-676.
- [45] WANG G F, WEI X N, FAN R C, et al. Molecular analysis of common wheat genes encoding three types of cytosolic heat shock protein 90 (Hsp90): Functional involvement of cytosolic Hsp90s in the control of wheat seedling growth and disease resistance[J]. New phytologist, 2011, 191(2): 418-431.
- [46] 陈二龙, 苏家恩, 范志勇, 等. Bright Yellow 2 烤烟热激蛋白 90 生物信息学分析[J]. 南方农业学报, 2017, 48(10): 1734-1740.
- [47] RENNER T, WATERS E R. Comparative genomic analysis of the Hsp70s from five diverse photosynthetic eukaryotes[J]. Cell stress & chaperones, 2007, 12(2): 172-185.
- [48] GEORGIOPOULOS C, WELCH W J. Role of the major heat shock proteins as molecular chaperones[J]. Annual review of cell biology, 1993, 9(9): 601-634.
- [49] 李慧聪, 郭秀林, 王冬梅, 等. 玉米热激蛋白 70 基因对温度胁迫的响应[J]. 河北农业大学学报, 2010, 33(6): 12-15.
- [50] 张杨, 孙明, 杨海燕, 等. 菊花脑热激蛋白 70 基因的克隆及表达分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2014, 40(2): 153-156.
- [51] SUN X T, LI B, ZHOU G M, et al. Binding of the maize cytosolic Hsp70 to calmodulin, and identification of calmodulin-binding site in Hsp70[J]. Plant & cell physiology, 2000, 41(6): 804-810.
- [52] MATTHEW L. RNAi for plant functional genomics[J]. Comparative & functional genomics, 2004, 5(3): 240-244.

科技论文写作规范——数字

公历世纪、年代、年、月、日、时刻和各种计数和计量, 均用阿拉伯数字。年份不能简写, 如 1990 年不能写成 90 年, 文中避免出现“去年”“今年”等写法。小于 1 的小数点前的零不能省略, 如 0. 245 6 不能写成. 245 6。小数点前或后超过 4 位数(含 4 位数), 从小数点向左右每 3 位空半格, 不用“,” 隔开。如 18 072. 235 71。尾数多的数字(5 位以上) 和小数点后位数多的小数, 宜采用 $\times 10^n$ (n 为正负整数) 的写法。数字应正确地写出有效数字, 任何一个数字, 只允许最后一位存在误差。