

引用格式:

刘晓敏, 黄晓杰, 蔡昊城, 何沛, 朱志扬, 朱益, 彭光爵, 秦天, 马婷婷, 雷佳, 黎娟. 醇化烟叶关键微生物类群与风格特色的相关性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(1): 23–30.

LIU X M, HUANG X J, CAI H C, HE P, ZHU Z Y, ZHU Y, PENG G J, QIN T, MA T T, LEI J, LI J. Key microbial groups are closely related to the formation of aroma characteristics in aged tobacco leaves[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(1): 23–30.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 醇化烟叶关键微生物类群与风格特色的相关性

刘晓敏<sup>1</sup>, 黄晓杰<sup>2</sup>, 蔡昊城<sup>1</sup>, 何沛<sup>1</sup>, 朱志扬<sup>1</sup>, 朱益<sup>3</sup>,  
彭光爵<sup>4</sup>, 秦天<sup>4</sup>, 马婷婷<sup>4</sup>, 雷佳<sup>4</sup>, 黎娟<sup>4\*</sup>

(1.云南省烟草化学重点实验室, 云南 昆明 650231; 2.云南省烟草公司临沧市公司双江分公司, 云南 临沧 677300;  
3.常德市烟草公司, 湖南 常德 415000; 4.湖南农业大学农学院, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** 分别选取清香型(云南玉溪)、浓香型(湖南郴州)和中间香型(贵州遵义)醇化 1 年的 C<sub>2</sub>F 烟叶, 测定烟叶的主要化学成分; 利用相似度检验分析烟叶微生物群落差异物种, 随机矩阵理论构建分子生态网络; 运用 Mantel 分析烟叶主要化学成分与微生物群落的相关性, 结果表明: 清香型、中间香型和浓香型烟叶微生物群落结构存在显著差异, 浓香型烟叶细菌及真菌群落  $\alpha$  多样性指数最高; 烟叶显著富集的关键细菌类群为假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*); 关键真菌类群为链格孢属(*Alternaria*)、根霉菌属(*Rhizopus*)和桑帕约氏酵母菌属(*Sampaiozyma*); 以浓香型烟叶微生物分子生态网络规模最大, 结构复杂且相对稳定。总糖与还原糖含量显著影响烟叶微生物群落的多样性与结构, 清香型及中间香型烟叶内关键微生物类群均与总糖、还原糖含量呈显著正相关, 而浓香型烟叶关键微生物类群均与总糖、还原糖含量呈显著负相关。

**关键词:** 醇化烟叶; 烟叶香型; 化学成分; 微生物多样性; 关键类群; 相关性

中图分类号: S572.01

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)01-0023-08

## Key microbial groups are closely related to the formation of aroma characteristics in aged tobacco leaves

LIU Xiaomin<sup>1</sup>, HUANG Xiaojie<sup>2</sup>, CAI Haocheng<sup>1</sup>, HE Pei<sup>1</sup>, ZHU Zhiyang<sup>1</sup>, ZHU Yi<sup>3</sup>,  
PENG Guangjue<sup>4</sup>, QIN Tian<sup>4</sup>, MA Tingting<sup>4</sup>, LEI Jia<sup>4</sup>, LI Juan<sup>4\*</sup>

(1.Yunnan Key Laboratory of Tobacco Chemistry, Kunming, Yunan 650231, China; 2.Shuangjiang Branch of Yunan Tobacco Company Lincang City Company, Lincang, Yunan 677300, China; 3.Changde Tobacco Company, Changde, Hunan 415000, China; 4.College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

**Abstract:** Clear-flavored, intermediate-flavored, and strongly flavored tobacco leaves respectively from Yuxi of Yunnan, Chenzhou of Hunan, and Zunyi of Guizhou, which had been mellowed for 1 year, were selected to test the main chemical composition of the tobacco leaves. The similarity test was used to analyze the differential species of the microbial community, the molecular ecological network was constructed based on the random matrix theory, and the correlation analysis was carried out by Mantel test. The results showed that there were significant differences in the structure of microbial communities among the three flavored tobacco leaves and the highest  $\alpha$  diversity index of bacterial and fungal communities were found in the strongly flavored tobacco leaves. *Pseudomonas*, *Enterobacter*, and *Sphingomonas* were the key bacterial groups and *Alternaria*, *Rhizopus*, and *Sampaiozyma* were the key fungi that were enriched in the three flavored tobacco leaves. The microbial ecological network of strong flavor tobacco leaves was the largest among the

收稿日期: 2023-09-15

修回日期: 2023-12-09

基金项目: 云南中烟工业有限责任公司科技项目(2021539200340245)

作者简介: 刘晓敏(1986—), 男, 云南昆明人, 硕士, 工程师, 主要从事卷烟叶组配方开发和烟叶应用研究, 13629474732@126.com; \*通信作者, 黎娟, 博士, 教授, 主要从事烟叶醇化与微生物提质应用研究, adalee619@163.com

three flavored tobacco leaves, and the network was complex and relatively stable. Total sugar and reducing sugar content significantly affected the diversity and structure of the microbial community of tobacco leaves. The key microbial taxa of clear and intermediate flavor tobaccos were significantly positively correlated with the total sugar and reducing sugar content, whereas the key microbial taxa of strong flavor tobaccos were significantly negatively correlated with the total sugar and reducing sugar content.

**Keywords:** aged tobacco leaves; tobacco aroma type; chemical composition; microbial diversity; key taxa; correlation

根据生态种植区划可将烤烟分为浓香型、中间香型及清香型<sup>[1]</sup>。浓香型烟叶具备焦甜香韵特点,清香型烟叶清香、甜香和果香风格突出,中间香型烟叶则介于两者之间,以正甜香韵为主<sup>[2]</sup>。烟叶醇化是改善烟叶品质、柔顺烟气、增香减杂、提高吸食口感的重要工艺环节<sup>[3]</sup>。经醇化后的烟叶的颜色、结构、香味、刺激性较好,不同香型烟叶的风格特色彰显。

微生物与化学变化、酶促反应协同在烟叶醇化过程中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。烟叶醇化过程中芽孢杆菌属、假单胞菌属、鞘氨醇单胞菌属等是烟叶细菌群落中的优势属<sup>[4-5]</sup>,曲霉菌属、腐霉菌属、链格孢属和枝孢菌属等是主要真菌类群<sup>[6]</sup>。假单胞菌属参与降解烟叶中的烟碱<sup>[7]</sup>;芽孢杆菌属对小分子芳香物质分解提香及缩短醇化进程作用较大<sup>[8]</sup>;鞘氨醇单胞菌属则与芳香族化合物降解有关<sup>[9]</sup>,影响烟叶感官品质的提升;曲霉菌属、腐霉菌属是影响醇化烟叶霉变发生的关键<sup>[10]</sup>。不同微生物类群多样性在烟叶醇化过程中的作用不一,其对烟叶的提质效应存在差异<sup>[11-13]</sup>。明确不同香型醇化烟叶关键微生物类群特征有助于定向筛选可培养微生物,为新型醇化方式(如烟叶混合醇化)以实现烟叶均质化提供理论支撑。

研究表明,清香型烟叶糖含量较高,钾含量越低烟叶越偏清香<sup>[14]</sup>;浓香型与中间香型烟叶中碳、氮化合物含量存在差异<sup>[15]</sup>。多酚类物质的含量高有利于烟叶清香型风格的凸显,而巨豆三烯酮、二氢大马酮含量高时有利于浓香型风格彰显<sup>[16]</sup>。微生物产酶等代谢活动可分解烟叶内淀粉、蛋白质等大分子物质为紫罗兰酮、糠醛等香气物质。烟叶不同醇化阶段微生物多样性及代谢物质有差异,随醇化时间推移,微生物群落结构及关键微生物类群发生变化<sup>[17]</sup>。研究表明,醇化后期假单胞菌属相对丰度会有所升高,鞘脂单胞菌属、甲基杆菌属相对丰度则有一定程度降低<sup>[18-19]</sup>。

为明确不同香型烟叶关键微生物类群特征及其与香韵特征形成的关系,笔者选取清香型(云南玉溪)、浓香型(湖南郴州)、中间香型(贵州遵义)烟区醇化1年的同品种和同等级的烟叶,检测烟叶主要化学成分及微生物群落组成。利用相似度检验分析微生物差异物种,基于随机矩阵理论构建分子生态网络,并通过 Mantel 检验进行烟叶化学成分与微生物类群的相关性分析,比较不同香型烟叶品质及微生物群落结构差异,明确不同香型烟叶关键微生物类群特征,了解关键类群对风格特色形成的影响,以期提升醇化烟叶品质提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

2022年6月,于云南中烟工业有限责任公司醇化仓库分别选取云南玉溪、贵州遵义、湖南郴州云烟87C<sub>2</sub>F醇化1年的烟叶,在醇化箱中采用五点取样法取样,每烟区烟叶均采集2kg,共计3个样本组,每组8个重复。烟叶从中剪开,一部分用于烟叶的化学成分检测;另一部分用液氮冷藏,置于-80℃冰箱,用于微生物检测。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 烟叶化学成分的检测

参照文献[20]的方法,检测烟叶的总糖、还原糖、氯离子、总氮、全钾、蛋白质和淀粉含量。

#### 1.2.2 烟叶微生物的检测

用植物DNA提取试剂盒(Omega)提取烟叶样品DNA,利用Thermo NanoDrop One检测其纯度和浓度。利用16S rRNA基因引物组515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')、806R(5'-GGACTA CHVGGGTWTCTAAT-3'),对细菌16S rRNA基因V4区进行独立PCR扩增;使用真菌通用引物Its1(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和Its2(5'-

GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')对真菌 ITS1 区域进行扩增,在 Illumina Nova 6000 平台对构建的扩增子文库进行测序。在获得原始测序数据后,运用 Cutadapt 软件对原始数据进行剪切、拼接和质控,获得去质读数。利用 FLASH 平台将正向和反向序列进行结合,通过 UPARSE 采用 97%的相似水平聚类。对比数据库 Silva 132 进行细菌物种注释,最小置信区间为 50%。

### 1.3 数据处理

运用 SPSS 22.0 对数据进行分析。烟叶化学成分通过单因素方差分析检验差异显著性。微生物  $\alpha$ 、 $\beta$  多样性等不同相似度检验通过 R v2.11.1 中的“vegan”软件包进行。利用 MENA 网站分析微生物数据,基于随机矩阵理论(RMT)构建其分子生态网

络,根据节点拓扑特征识别关键物种<sup>[21]</sup>。使用 RStudio 中“corrplot”包对烟叶微生物群落相关指标与烟叶化学品质之间进行 Pearson 相关性分析并使结果可视化,使用“LINKET”进行 Mantel 检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同烟区醇化烟叶主要化学成分的差异

由表 1 可知,玉溪烟叶还原糖和氯离子含量均显著高于郴州和遵义的;玉溪、遵义烟叶总糖含量显著高于郴州的;郴州烟叶的全钾含量最高;不同烟区烟叶钾氯比及淀粉含量均存在显著差异,遵义的最高,玉溪的最低;郴州、玉溪烟叶的总氮及蛋白质含量均显著高于遵义的。

表 1 不同烟区醇化烟叶的化学成分

烟区	总糖/%	还原糖/%	全钾/%	氯离子/%	钾氯比	总氮/%	淀粉/%	蛋白质/%
郴州	(22.89±0.91)b	(20.46±0.92)c	(1.58±0.17)a	(0.53±0.02)b	(3.01±0.37)b	(1.39±0.07)a	(15.91±0.24)b	(11.61±0.14)a
玉溪	(29.29±3.25)a	(27.36±2.84)a	(1.29±0.05)b	(1.30±0.10)a	(1.00±0.08)c	(1.36±0.03)a	(10.16±0.14)c	(11.17±0.04)a
遵义	(30.20±1.96)a	(24.43±1.45)b	(1.25±0.15)b	(0.26±0.01)c	(4.85±0.62)a	(1.19±0.04)b	(16.45±0.65)a	(9.35±0.74)b

同列不同字母表示烟区间的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

### 2.2 不同烟区醇化烟叶的微生物群落结构

#### 2.2.1 微生物群落的 $\alpha$ 多样性

微生物群落  $\alpha$  多样性指数包括丰富度指数(Observed 值、Chao1 指数、ACE 指数)与多样性指数(香农指数、辛普森指数)。由表 2 可知,3 烟区烟叶细菌群落 Observed 值、Chao1 指数、ACE 指数均存在显著差异且变化趋势相同,郴州烟叶丰富度

指数最高,玉溪的最低。郴州和遵义烟叶细菌群落香农指数显著高于玉溪的,3 烟区烟叶细菌群落辛普森指数无显著差异。从真菌群落  $\alpha$  多样性指数来看,郴州烟叶 Observed 值、Chao1 指数、ACE 指数均显著高于玉溪和遵义的,玉溪与遵义烟叶的差异不显著。3 烟区烟叶真菌群落香农指数与辛普森指数均存在显著差异,郴州烟叶的最高,遵义烟叶的最低。

表 2 不同烟区醇化烟叶微生物群落的  $\alpha$  多样性指数

微生物类别	烟区	Observed 值	Chao1 指数	ACE 指数	香农指数	辛普森指数
细菌	郴州	(184.25±20.85)a	(269.75±28.50)a	(244.35±18.57)a	(3.26±0.39)a	0.90±0.04
	玉溪	(19.38±8.86)c	(33.93±20.28)c	(39.13±21.38)c	(2.47±0.24)b	0.89±0.04
	遵义	(99.00±17.53)b	(198.60±37.38)b	(215.48±25.65)b	(3.31±0.55)a	0.89±0.10
真菌	郴州	(75.50±15.91)a	(84.03±20.67)a	(82.22±19.23)a	(3.02±0.43)a	(0.87±0.07)a
	玉溪	(31.38±10.27)b	(36.58±18.80)b	(36.07±15.10)b	(1.58±0.28)b	(0.61±0.09)b
	遵义	(22.75±4.06)b	(34.31±8.48)b	(35.89±8.26)b	(0.88±0.17)c	(0.36±0.08)c

同列不同字母表示同一微生物类群烟区间的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

#### 2.2.2 微生物群落的 $\beta$ 多样性

对醇化烟叶微生物群落结构进行基于 Bray-Curtis 相异度检验及主坐标分析(PCoA),结果表明,细菌群落  $\beta$  多样性(图 1-a)分析中,PCo1 轴和 PCo2 轴的贡献率分别为 30.00%和 20.60%,累计贡献率

为 56.00%,3 烟区烟叶细菌群落结构差异显著。真菌群落  $\beta$  多样性(图 1-b)分析中,PCo1 轴和 PCo2 轴的贡献率分别为 63.40%和 17.80%,累计贡献率为 81.20%,3 烟区烟叶真菌群落结构差异显著。

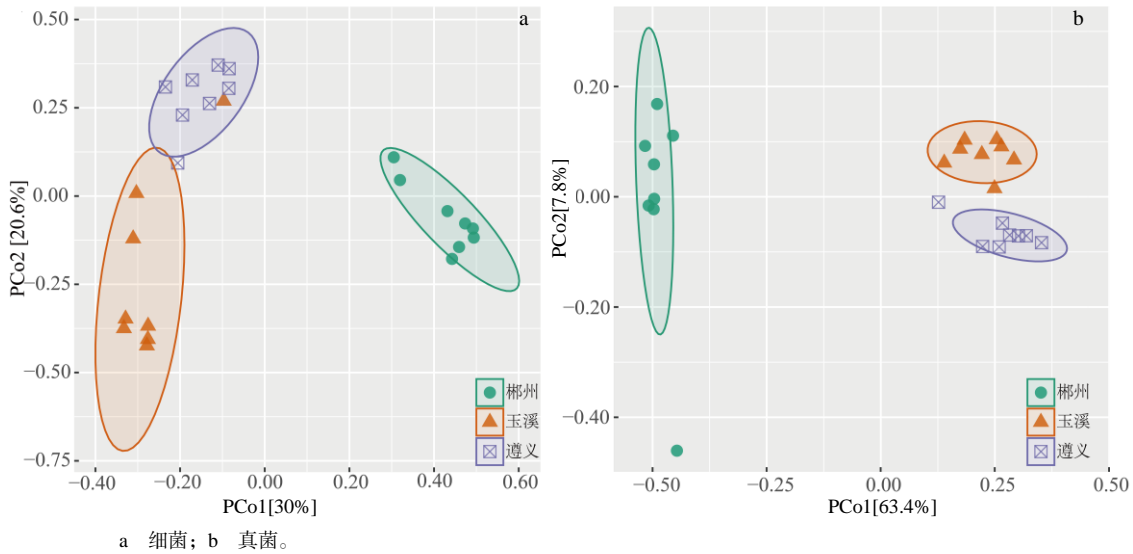


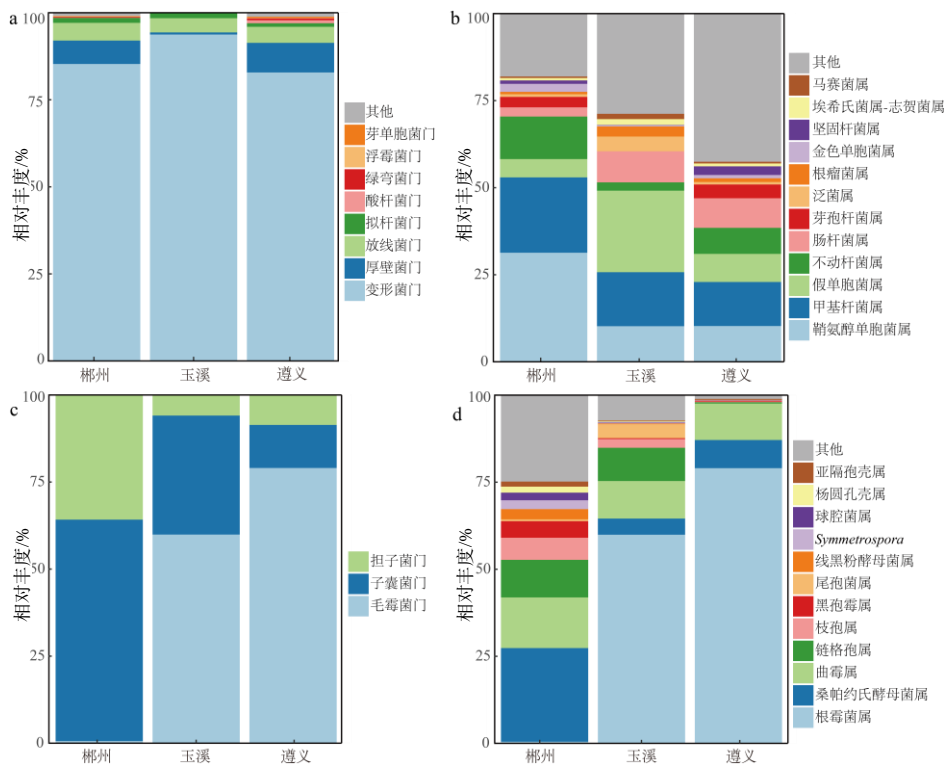
图 1 不同烟区醇化烟叶细菌及真菌群落的 PCoA 分析

Fig.1 PCoA analysis of bacterial communities and fungi communities from aged tobacco leaves with different tobacco area

### 2.2.3 烟叶微生物群落组成的差异

不同烟区醇化烟叶的细菌及真菌群落组成有所不同(图 2)。门水平上,细菌群落以变形菌门、厚壁菌门、放线菌门、拟杆菌门为主,其中变形菌门占主导地位,相对丰度为 82.84%~93.73%;在属水

平上,郴州、玉溪和遵义烟叶中主要菌属分别是鞘氨醇单胞菌属、假单胞菌属、甲基杆菌属。郴州地区烟叶真菌群落以子囊菌门为主,玉溪和遵义的则以毛霉门为主;郴州真菌烟叶属以桑帕约氏酵母属为主,玉溪和遵义的则均以根霉属为主。



门水平相对丰度前 8 个类群、属水平相对丰度前 12 个类群着色,其余统一为其他; a、b 分别为细菌门、属的相对丰度; c、d 分别为真菌门、属的相对丰度。

图 2 不同烟区醇化烟叶微生物群落的组成

Fig.2 Composition of microbial community in aged tobacco leaves from different tobacco area

2.2.4 不同烟区醇化烟叶微生物群落的差异物种

分析不同烟区细菌群落差异物种(图 3-a)表明, 玉溪与遵义烟叶有显著差异的菌属为不动杆菌属。玉溪与郴州烟叶相比有显著差异的菌属有鞘氨醇单胞菌属、不动杆菌属、假单胞菌属。遵义与郴州烟叶相比有显著差异的菌属有鞘氨醇单胞菌属与肠杆菌属。其中玉溪、遵义与郴州烟叶中显著富集的菌属分别为假单胞菌属、肠杆菌属与鞘氨醇单胞菌属, 这些菌属为不同烟区烟叶中的关键细菌类群。

分析真菌群落差异物种(图 3-b)表明, 玉溪与遵义烟叶相比有显著差异的菌属有链格孢属、枝孢菌

属、根霉菌属。玉溪与郴州烟叶相比有显著差异的菌属有桑帕约氏酵母菌属、黑孢霉属、圆孢线黑粉菌属、暗球腔菌属、根霉菌属。遵义与郴州烟叶相比有显著差异的菌属有桑帕约氏酵母菌属、枝孢菌属、黑孢霉属、圆孢线黑粉菌属、暗球腔菌属、根霉菌属。其中玉溪烟叶显著富集的菌属为链格孢属; 遵义烟叶显著富集的菌属为根霉菌属; 郴州烟叶显著富集的菌属有桑帕约氏酵母菌属、枝孢菌属、黑孢霉属、线黑粉酵母菌属、球腔菌属。这些菌属为不同烟区烟叶中的关键真菌类群。

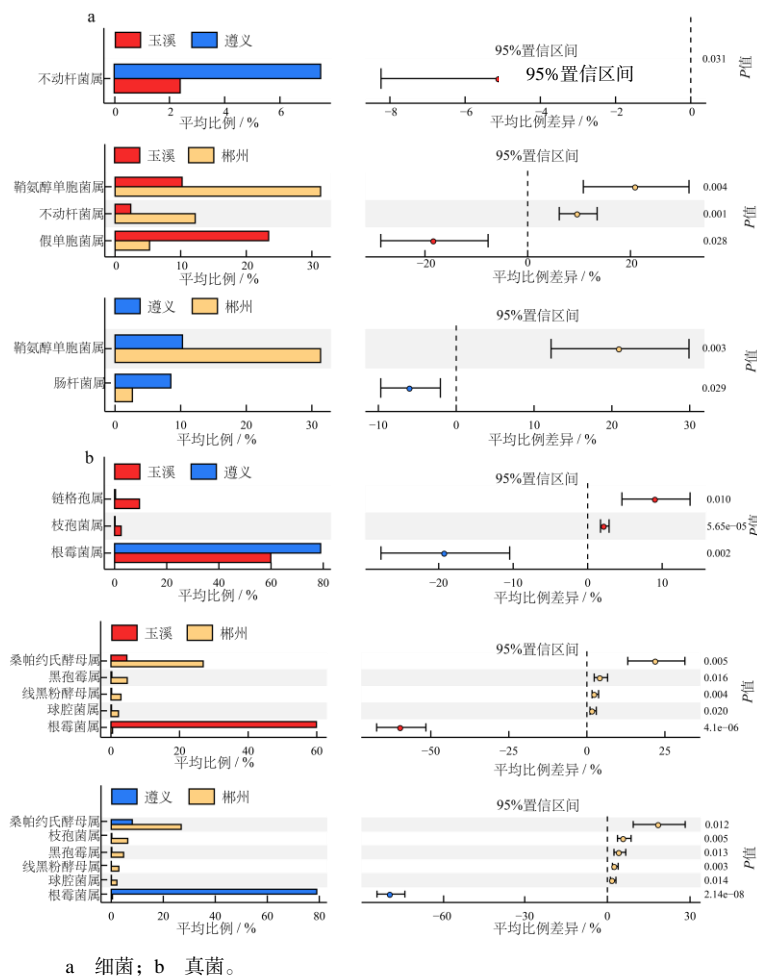


图 3 不同香型醇化烟叶细菌与真菌群落的差异物种  
 Fig.3 Analysis of differential species of bacterial and fungal communities in aged tobacco leaves from different tobacco area

2.2.5 不同烟区醇化烟叶微生物分子生态网络拓扑特性

基于随机矩阵理论构建 3 个烟区微生物分子生态网络, 结果 3 个细菌网络拓扑分布的  $R^2$  分别为 0.835、1.000 和 0.848, 符合幂定律(表 3)。网络特征参数的分析表明, 3 地区烟叶中的微生物大多为

正互相作用, 微生物以共生关系为主导, 其中玉溪烟叶微生物群落共生比例最高, 郴州最低, 郴州生态网络总节点数、总连接数、平均连通度最高, 玉溪的最低, 说明郴州烟叶微生物物种间关系更加复杂, 网络规模也更大。此外, 郴州地区烟叶细菌微生物网络平均群聚系数较低且平均路径距离较长,

表明郴州烟叶中微生物间响应速度慢,抗干扰能力较强,群落结构也较稳定。3烟区烟叶真菌网络则以负相关关系占主导地位,郴州生态网络总节点

数、总连接数最高,遵义的最低,说明郴州烟叶微生物网络连接最紧密,结构也较复杂。

表3 醇化烟叶微生物网络拓扑特征参数

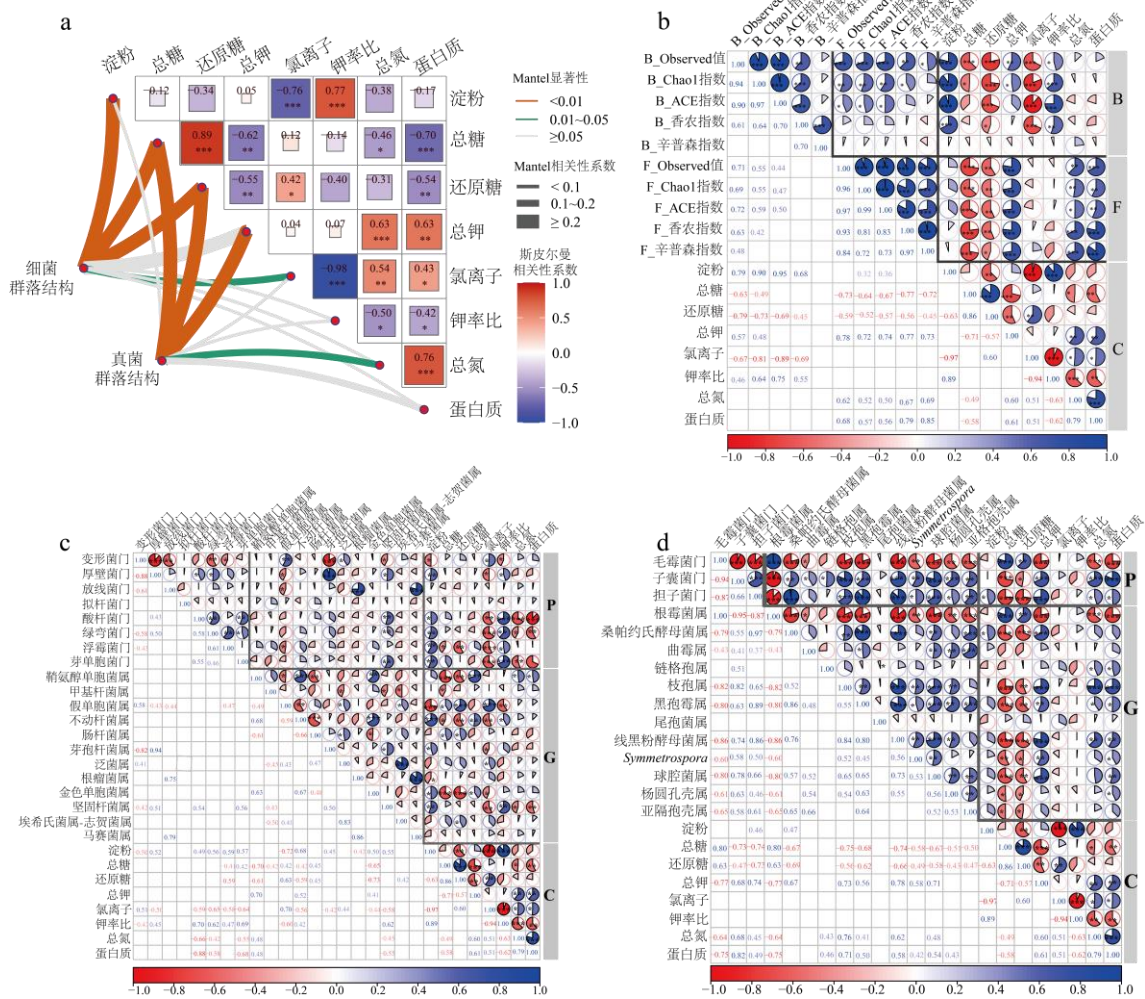
Table 3 Topological characteristic parameters of microbial network in aged tobacco leaves

烟区	总节点数		总连接数		R <sup>2</sup>		正相关连接度/%		平均连通度		平均聚类系数		平均路径距离		模块度	
	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌
郴州	130	314	154	7 035	0.835	0.116	59.74	1.42	2.369	44.809	0.086	0.313	6.309	1.901	0.79	0.01
玉溪	33	114	22	792	1.000	0.227	86.38	3.66	1.333	13.895	0.182	0.369	1.400	1.896	0.90	0.15
遵义	80	68	89	595	0.848	0.083	71.91	1.68	2.225	17.500	0.118	0.224	4.088	1.788	0.76	0.07

2.3 醇化烟叶关键微生物类群与烟叶品质的关系

由图4-a可知,烟叶中的淀粉、总糖、还原糖含量显著影响烟叶细菌的群落结构,总糖、还原糖与总钾含量显著影响真菌群落结构。分析微生物群落 α 多样性指数与烟叶化学成分相关性(图4-b)表明,细菌与真菌群落多样性指数均与总糖、还原糖

含量呈显著负相关,细菌群落结构与淀粉含量呈显著正相关,真菌群落多样性与总氮、蛋白质含量呈显著正相关。分析关键细菌类群与烟叶化学成分的相关性(图4-c)可知,玉溪烟叶内显著富集的假单胞菌属与淀粉、钾离子含量呈显著负相关,与总糖、还原糖含量呈显著正相关。遵义烟叶内显著富集的



a、b、c、d 分别为微生物群落 β 多样性、微生物群落 α 多样性、细菌群落门和属水平的相对丰度、真菌群落门和属水平的相对丰度与化学成分的相关性。

图4 醇化烟叶微生物群落结构与化学成分的相关性

Fig. 4 Correlation between microbial community structure and chemical composition of aged tobacco leaves

肠杆菌属与总糖、还原糖含量呈显著正相关。郴州烟叶内显著富集的鞘氨醇单胞菌属与总糖、还原糖含量呈显著负相关，与总氮、蛋白质含量呈显著正相关。分析关键真菌类群与烟叶化学成分的相关性(图 4-d)可知，玉溪烟叶内显著富集的链格孢属与总氮、蛋白质含量呈显著正相关。遵义烟叶内显著富集的根霉菌属与总糖、还原糖含量呈显著正相关，与总氮、蛋白质含量呈显著负相关。郴州烟叶内显著富集的 5 个菌属均与总糖、还原糖含量呈显著负相关，枝孢菌属与总氮、蛋白质含量呈显著正相关。

综上，遵义烟叶内关键微生物类群均与总糖、还原糖含量呈显著正相关，郴州烟叶内关键微生物类群均与总糖、还原糖含量呈显著负相关；因此微生物在烟叶醇化期的生长活动基础与代谢物质差异会对烟叶风格特色的形成产生影响。

### 3 结论与讨论

本研究结果表明，湖南郴州浓香型烟叶微生物  $\alpha$  多样性指数最高，3 种香型烟叶微生物群落结构存在显著差异；清香型、中间香型及浓香型烟叶显著富集的关键细菌类群分别是假单胞菌属、肠杆菌属与鞘氨醇单胞菌属；关键真菌类群分别为链格孢属、根霉菌属与桑帕约氏酵母菌属。浓香型烟叶微生物分子生态网络规模更大，结构复杂且相对稳定。烟叶总糖与还原糖含量显著影响烟叶微生物群落多样性与结构，清香型及中间香型烟叶内关键微生物类群与总糖、还原糖含量呈显著正相关，而浓香型烟叶内关键微生物类群均与总糖、还原糖含量呈显著负相关。

烟叶化学成分是决定其风格特色与使用价值的重要因素<sup>[22]</sup>。不同香型醇化烟叶因生长条件下光温水热及醇化环境差异<sup>[23]</sup>，其化学成分、感官质量、香气物质及微生物群落多样性与组成存在差异<sup>[24-26]</sup>。淀粉与蛋白质是烟叶内含量较高的大分子有机物质，可以作为碳源与氮源供细菌群落生长代谢产生代谢物和生物酶<sup>[27]</sup>。代谢产物包括糖类、氨基酸等小分子物质，这些物质在酶的催化作用下进一步发生化学反应，进而达到改善烟叶品质的作用<sup>[28]</sup>。本研究发现玉溪烟叶淀粉含量较少，而经其分解产生的总糖还原糖含量较高。这也是玉溪烟叶香气丰富，吃味醇和的原因。郴州烟叶蛋白质与总氮含量显著高于其他产地烟叶，因此浓香型烟叶燃吸时会产生辛辣苦涩味。

微生物多样性指数高，种类丰富，参与降解香气前体物活性强，能够生成更多糖醛、5-甲基糠醛、乙酰呋喃、香叶基丙酮等表征浓香型烟叶风格特色的致香物质<sup>[29]</sup>。不同香型烟叶微生物群落结构差异致使烟叶显著富集的微生物类群不同，其生长活性及代谢物质会影响烟叶香韵特征形成。本研究结果表明，郴州烟叶中的关键微生物类群为变形菌门，其在参与物质分解与循环过程中发挥重要作用<sup>[30]</sup>。鞘氨醇单胞菌属、肠杆菌属、假单胞菌属分别是郴州、遵义、玉溪烟叶细菌关键类群菌属。研究表明，鞘氨醇单胞菌是一类可降解多环芳烃和酚类物质的微生物<sup>[31]</sup>，其降解产物香叶基丙酮为浓香型烟叶特色致香物质<sup>[32]</sup>。烟叶糖碱比偏大，烟叶偏向于清香味<sup>[2]</sup>，而玉溪烟叶糖含量较高，因其显著富集的关键微生物类群假单胞菌属具备降解烟碱能力，使其清甜香味更为浓郁。除了已知的烟叶中广泛存在的假单胞菌属，研究发现甲基杆菌属是玉溪、郴州与遵义烟叶内主要菌属。甲基杆菌属能够有效降低烟草制品中甾醇含量，从而减少甾醇物质在燃烧过程中形成的有害物质的含量<sup>[33]</sup>。郴州、遵义烟叶真菌群落主要以子囊菌门为主，玉溪烟叶以毛霉门为主；郴州烟叶以桑帕约氏酵母属为主，玉溪和遵义烟叶以根霉菌属为主。桑帕约氏酵母菌作为烟叶的内生真菌，可降解类胡萝卜素、果胶、脂肪类物质<sup>[34]</sup>。曲霉有降解糖类化合物和蛋白质的作用，从而促进香味物质合成<sup>[35]</sup>；因此，不同香型烟叶的关键微生物类群的功能特性及代谢活性是烟叶风格特色形成的重要原因。

不同香型醇化烟叶分子生态网络拓扑特征表明，细菌微生物生态网络大多为正相互作用。郴州烟叶的微生物生态网络总节点数、总连接数、平均连通度最高，微生物网络平均群聚系数较低且平均路径距离较长，微生物物种间的关系较复杂，网络规模更大，网络连接较紧密，结构较复杂也相对稳定，更有利于抵抗外界环境变化带来的不利影响。

#### 参考文献：

- [1] 唐远驹. 关于烤烟香型问题的探讨[J]. 中国烟草科学, 2011, 32(3): 1-7.
- [2] 韩锦峰, 宋娜娜. 烤烟香型表征研究[J]. 中国烟草学报, 2014, 20(6): 150-154.
- [3] 牟丹, 周家喜, 张鑫, 等. 烟叶陈化过程可培养微生物的生态功能[J]. 微生物学通报, 2020, 47(2): 362-369.
- [4] 孙玉宇. 烟草发酵中微生物研究进展[J]. 现代农业科技, 2014(9): 302-303.
- [5] 陈伦旺. 陈化烟叶微生物的分离鉴定及其在烟叶发酵

- 中的应用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- [6] 成渝, 刘京, 高英明, 等. 初烤和复烤对烟叶真菌群落结构的影响[J]. 烟草科技, 2022, 55(5): 9–16.
- [7] ZHONG W H, ZHU C J, SHU M, et al. Degradation of nicotine in tobacco waste extract by newly isolated *Pseudomonas* sp. ZUTSKD[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(18): 6935–6941.
- [8] HUANG J W, YANG J K, DUAN Y Q, et al. Bacterial diversities on unaged and aging flue-cured tobacco leaves estimated by 16S rRNA sequence analysis[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 88(2): 553–562.
- [9] ZHOU J X, YU L F, ZHANG J, et al. Characterization of the core microbiome in tobacco leaves during aging[J]. *MicrobiologyOpen*, 2020, 9(3): e984.
- [10] 刘琳琳, 芦柯, 胡延奇, 等. 工业发酵雪茄烟叶霉变微生物的分离鉴定及生物学特性研究 [J]. 中国烟草科学, 2023, 44(6): 100–105.
- [11] FAKRUDDIN M, BINMANNAN K S, ANDREWS S. Viable but nonculturable bacteria: food safety and public health perspective[J]. *ISRN Microbiology*, 2013, 2013: 703813.
- [12] 张颖, 杨悦, 韦庆慧, 等. 鞘氨醇单胞菌的特性及应用研究进展[J]. 化学与生物工程, 2021, 38(3): 6–13.
- [13] 田丽君, 荆永锋, 郑卜凡, 等. 浏阳洞库陈化烟叶微生物多样性分析[J]. 中国烟草学报, 2022, 28(1): 98–107.
- [14] 窦玉青, 汤朝起, 王平, 等. 闽西、赣中不同香型烤烟主要化学成分对吸食品质的影响 [J]. 烟草科技, 2009, 42(11): 15–20.
- [15] 张永安, 郑湖南, 周冀衡, 等. 不同产区烤烟香气特征与化学成分的差异[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007, 33(5): 568–571.
- [16] 常爱霞, 张建平, 杜咏梅, 等. 烤烟香型化学成分主导的不同产区烟叶聚类分析[J]. 中国烟草学报, 2010, 16(2): 14–19.
- [17] MU Y, CHEN Q, PARALES R E, et al. Bacterial catabolism of nicotine: catabolic strains, pathways and modules[J]. *Environmental Research*, 2020, 183: 109258.
- [18] MALDONADO-ROBLEDO G, RODRIGUEZ-BUSTAMANTE E, SANCHEZ-CONTRERAS A, et al. Production of tobacco aroma from lutein. Specific role of the microorganisms involved in the process[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2003, 62(5/6): 484–488.
- [19] LIU F, ZHANG X P, WANG M D, et al. Biosorption of sterols from tobacco waste extract using living and dead of newly isolated fungus *Aspergillus fumigatus* strain LSD-1[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2020, 84(7): 1521–1528.
- [20] 南京农业大学. 土壤农化分析[M]. 2版. 北京: 农业出版社, 1988.
- [21] DENG Y, JIANG Y H, YANG Y F, et al. Molecular ecological network analyses[J]. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13(1): 113.
- [22] 韩锦峰, 袁秀秀, 谢晓辉, 等. 同一品种在不同生态区烟叶化学品质的差异[J]. 中国烟草学报, 2016, 22(5): 70–78.
- [23] 李淑娥, 刘开平, 杨居健. 陕西白河烟区烟叶化学成分评价及与津巴布韦烤烟的相似性分析[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(29): 11837–11838.
- [24] 耿宗泽, 吴泽, 杨杰, 等. 基于高通量测序分析不同产地醇化烟叶细菌群落组成和多样性[J]. 食品与发酵科技, 2023, 59(5): 17–22.
- [25] 王欣, 赵云飞, 闫铁军, 等. 湖北烟区烤烟感官质量评价及与津巴布韦烤烟的相似性分析[J]. 烟草科技, 2010, 43(11): 5–8.
- [26] 王兵, 杨凯, 陈磊, 等. 不同产地烟叶中半挥发性香气成分的指纹图谱[J]. 烟草科技, 2014, 47(8): 42–46.
- [27] 李秀妮, 李猛, 万德建, 等. 烟叶微生物及其在烟叶发酵和醇化中的作用研究进展[J]. 微生物学通报, 2019, 46(6): 1520–1529.
- [28] 张玉姣, 宋金鹏, 郭学民, 等. 烟叶微生物菌群变化及微生物在烟叶中的应用现状[J]. 中国酿造, 2022, 41(6): 31–36.
- [29] 李章海, 王能如, 王东胜, 等. 烤烟香型的主要影响因素及香型指标模型的构建初探 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(3): 2055–2057.
- [30] DANG H Y, LOVELL C R. Microbial surface colonization and biofilm development in marine environments[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2016, 80(1): 91–138.
- [31] 冯颖杰, 袁岐山, 杨宗灿, 等. 一株鞘氨醇单胞菌对复烤后烟叶多酚物质的降解作用[J]. 中国烟草学报, 2019, 25(1): 19–24.
- [32] 张希, 邓宝安, 张凤侠, 等. 不同产区烤烟烟叶中性致香物质的对比分析[J]. 轻工科技, 2023, 39(4): 31–34.
- [33] 王改萍, 祝长青, 王茹. 一株耐盐甲基杆菌 *Methylobacterium* sp. W-1 的分离及促生潜能研究 [J]. 微生物学通报, 2021, 48(11): 4134–4144.
- [34] SUN M L, WANG H C, SHI C H, et al. Effect of azoxystrobin on tobacco leaf microbial composition and diversity[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 13: 1101039.
- [35] 张怡帆, 胡苏林, 杜文杰, 等. 一株具有多糖降解酶活性的真菌菌株的筛选及其在烟叶品质提升中的应用研究[J/OL]. 中国烟草学报, 1–13[2023–11–28]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2985.TS.20240119.1849.002.html>.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗维