

烤烟抗氧化能力与品质的关系研究

王小飞¹,王豹祥²,张明月¹,张 广¹,曹育博¹,邱立友^{1*}

(1. 河南农业大学 生命科学院/农业部农业微生物酶工程重点实验室,河南 郑州 450002;
2. 湖北中烟工业有限责任公司,湖北 武汉 430051)

摘要:为探明烤烟抗氧化能力与其品质的关系,在泸州烟区火石土、黄壤土和水稻土3种不同质地土壤种植云烟97,分别取叶龄15~75 d的中部叶和上部叶,杀青后测定烟叶的总抗氧化能力、总酚含量和类胡萝卜素含量,并测定烤后烟叶的总抗氧化能力和中性致香物质含量。结果表明,随叶龄的增加,火石土植烟中部叶和上部叶的总抗氧化能力在叶龄15~45 d增加,叶龄60~75 d稍有降低;黄壤土植烟中部叶总抗氧化能力持续增加,上部叶在叶龄15~30 d降低而后持续增加;水稻土植烟,烟叶总抗氧化能力变化不明显;火石土和黄壤土植烟中部叶、上部叶叶龄75 d的总抗氧化能力分别极显著高于水稻土67.38%和75.80%、131.76%和99.67%。不同质地土壤植烟中部叶的总抗氧化能力与烟叶的总酚、类胡萝卜素含量呈极显著或显著正相关,上部叶总抗氧化能力与总酚含量呈极显著正相关。烤后烟总抗氧化能力与中性致香物质西柏烷类降解产物含量、类胡萝卜素降解产物含量和不含新植二烯的中性致香物质含量总和呈显著或极显著正相关。可见,烟叶的抗氧化能力与其品质存在密切关系,可以作为衡量烟叶品质的一个重要指标。

关键词:烤烟;抗氧化能力;总酚;类胡萝卜素;中性致香物质

中图分类号: S572 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2015)08-0032-06

Relationship between Antioxidant Capacity and
Quality of Flue-cured Tobacco

WANG Xiaofei¹, WANG Baoxiang², ZHANG Mingyue¹, ZHANG Guang¹, CAO Yubo¹, QIU Liyou^{1*}

(1. College of Life Sciences, Henan Agricultural University/Key Laboratory of Enzyme Engineering of Agricultural Microbiology, Ministry of Agriculture, Zhengzhou 450002, China; 2. China Tobacco Hubei Industrial Co., Ltd., Wuhan 430051, China)

Abstract: To explore the relationship between antioxidant capacity and quality of flue-cured tobacco, Yunyan 97 was cultivated in three typical tobacco soils with different textures in Luzhou. The three typical tobacco soils were flint soil, yellow soil, and paddy soil. The total antioxidant capacity, total phenolic content and carotenoid content of the middle and upper leaves were detected when the leaf age was 15 d to 75 d, further more the total antioxidant capacity and the contents of neutral aroma components of the flue-cured tobacco leaves were determined. In flint soil, the total antioxidant capacity of the middle and upper leaves increased at the leaf age of 15—45 d, and then slightly decreased at the leaf age of 60—75 d. In yellow soil, the total antioxidant capacity of the middle leaves steadily increased through the whole growth stage, while the upper leaves decreased in earlier growth stage and then steadily increased. In paddy soil, the total antioxidant capacity of the middle and upper leaves had no distinct change in the whole growth stage. The total antioxidant capacity of the middle and upper leaves cultivated in flint and yellow soils at a leaf age of 75 d was significantly higher than that in paddy soil, the middle leaves were 67.38% and

收稿日期:2015-02-25
基金项目:四川省烟草专卖局攻关项目[川烟科(2009)2号]
作者简介:王小飞(1987-),男,河南登封人,在读硕士研究生,研究方向:烟草生理生化。E-mail:294609249@qq.com
* 通讯作者:邱立友(1963-),男,河南信阳人,教授,博士,主要从事作物生理生化研究。E-mail:qliyou@henau.edu.cn

75.80% higher, and the upper leaves were 131.76% and 99.67% higher, respectively. The total phenolics and carotenoids contents showed significant or very significant positive correlation with the total antioxidant capacity of the middle leaves cultivated in three typical soils with different textures, while the total phenolics contents and the total antioxidant capacity of the upper leaves showed a very significant positive correlation. The contents of carotenoid catabolites, cembrane catabolites, and neutral aroma components (except of neophytadiene) of the flue-cured tobacco leaves showed significant or very significant positive correlation with the total antioxidant capacity. The results confirm that there is a close relationship between the antioxidant capacity and the quality of tobacco leaves, thus the antioxidant capacity of the tobacco leaves may be used as an important index to represent the quality of tobacco leaves.

Key words: flue-cured tobacco; antioxidant capacity; total phenol; carotenoid; neutral aroma components

根据衰老的自由基学说,活性氧自由基攻击生命大分子造成组织损伤,是引起机体衰老的根本原因,也是诱发肿瘤等恶性疾病的重要原因^[1]。动植物食品和中草药中均含有一定量的抗氧化物质,具有抗氧化能力^[2-4],有助于清除活性氧。抗氧化能力的强弱已成为衡量食品、药品品质的重要指标^[5-6]。

我国是烤烟生产大国,烤烟品质由外观质量和内在品质组成,其中内在品质包括化学成分、燃烧性、安全性和感官质量等。感官质量即评吸质量,既与烟叶的化学成分有密切关系^[7],也与烟叶中性致香物质的种类和含量有密切关系。因此,中性致香物质被认为是评价烟叶品质的核心内容,也是对烟叶香气质、香气量及香型进行评价的重要指标之一^[8-9]。作为特殊的嗜好类食品,烟草的抗氧化能力及其与烟叶品质的关系尚未见报道,鉴于此,于 2010—2011 年在泸州烟区研究了不同质地土壤植烟烟叶生长过程中抗氧化能力的变化以及烟叶抗氧化能力与其主要化学成分和中性致香物质的关系,以探索烟叶的抗氧化能力与其内在品质之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

试验在四川泸州烟区古蔺县进行,选取有代表性的火石土、黄壤土和水稻土 3 种质地土壤;供试烤烟品种为云烟 97,常规管理,措施一致。

1.2 方法

于 3 种质地土壤各选 100 株烟株进行挂牌并标记移栽前后出现的真叶叶位,每隔 2 d 调查一次新生叶片出现情况,并在叶龄第 15、30、45、60、75 天(自叶片长出 5 mm 计为叶龄第 1 天)各选 3 株长势相近烟株,对其中、上部位(分别选取采收第 10、15

片叶代表中、上部位烟叶)进行取样,之后放入冰盒内带回实验室。叶片去主脉后 105 ℃、30 min 杀青,然后于 60 ℃下烘 30 h 左右至恒质量。适熟烟叶采收后,常规方法烘烤,进行中性致香物质的分析。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 总抗氧化能力 取粉碎均匀的杀青烟叶样品或烘烤烟样(过 0.25 mm 筛)测定总抗氧化能力。采用 Fe^{3+} 还原试剂盒法,试剂盒由南京建成生物工程研究所提供,按产品说明书进行测定。总抗氧化能力单位定义为:在 37 ℃ 时,每分钟每毫克样品的反应体系的吸光度值增加 0.01 为 1 个活力单位(U/mg)。

1.3.2 总酚含量 采用 Folin-酚法测定。准确称取粉碎均匀的杀青烟叶样品 100 mg 于 100 mL 容量瓶中,加入 80 ℃ 左右的蒸馏水 50 mL,在 80 ℃ 以上的水浴中加热 30 min(不断摇动,不使烟样沾着瓶壁)后冷却,用蒸馏水定容至刻度,摇匀后过滤到干燥的三角瓶中(弃去最初的 20 mL 滤液)。滤液适当稀释后取稀释液 10 mL,与 Folin-酚试剂及 20% Na_2CO_3 溶液在沸水浴中加热 1 min,冷却后测定 A_{650} 值,计算总酚含量^[10]。

1.3.3 类胡萝卜素含量 取粉碎均匀的杀青烟叶样品,采用比色法测定^[10]。

1.3.4 中性致香物质含量 成熟采收烘烤烟样的中性致香物质含量采用 GC/MS 内标法测定,仪器为 HP5890-5972 气质联用仪。测定方法和中性致香物质分类参考于建军等^[11]的方法。

1.4 数据统计与分析

测定结果为 3 个平行样品的平均值,采用 SPSS 10.0 软件包进行数据的 *t* 检验和相关性分析。

2 结果与分析

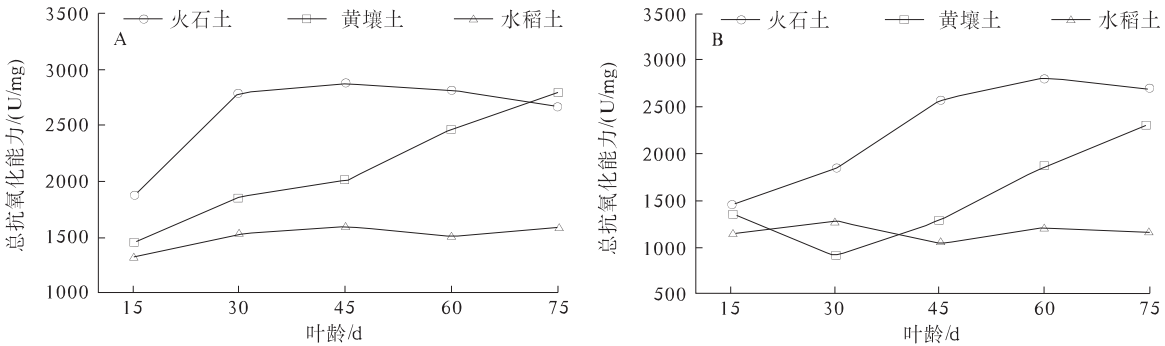
2.1 不同质地土壤植烟烟叶的总抗氧化能力

由图 1 可见,同一质地土壤植烟中部叶和上部

叶的总抗氧化能力随叶龄增加的变化趋势基本相同。火石土植烟,中部叶和上部叶的总抗氧化能力在叶龄 15~45 d 均增加,叶龄 60~75 d 稍有降低;黄壤土植烟,中部叶总抗氧化能力持续增加,下部叶总抗氧化能力在叶龄 15~30 d 降低而后持续增加;水稻土植烟,中部叶和上部叶总抗氧化能力变化不明显。

3 种不同质地土壤植烟相比,火石土、黄壤土植烟中部叶 75 d 叶龄时总抗氧化能力分别为 2 669.57、2 792.40 U/mg,极显著高于水稻土

67.38%、75.80% ($P < 0.01$);火石土植烟上部叶 75 d 叶龄时总抗氧化能力为 2 708.55 U/mg,显著高于黄壤土植烟上部叶 (2 333.50 U/mg) 16.07% ($P < 0.05$),二者分别极显著高于水稻土植烟上部叶 131.76%、99.67% ($P < 0.01$)。同一质地土壤植烟,火石土植烟 75 d 叶龄的中部叶总抗氧化能力与上部叶无显著差异,而黄壤土和水稻土植烟 75 d 叶龄的中部叶总抗氧化能力分别显著高于上部叶 19.67%、36.47% ($P < 0.05$)。



A、B 分别为中部叶、上部叶,下同
图 1 不同质地土壤植烟烟叶的总抗氧化能力变化

2.2 不同质地土壤植烟烟叶的总酚含量

由图 2 可知,不同质地土壤植烟中部叶在叶龄 60 d 前总酚含量随叶龄增加持续增加,之后,水稻土植烟中部叶总酚含量继续增加,而火石土和黄壤土植烟中部叶总酚含量有所降低;上部叶总酚含量变化趋势与中部叶不同,火石土植烟上部叶总酚含量持续增加,水稻土植烟上部叶总酚含量于叶龄 60 d 前整体呈升高趋势,之后有所降低,而黄壤土植

烟上部叶总酚含量在叶龄 15~30 d 迅速降低,而后无明显变化。

同一质地土壤植烟叶龄 75 d 的中部叶总酚含量与上部叶相比,火石土植烟差异不显著 ($P > 0.05$),而黄壤土、水稻土植烟叶龄 75 d 的中部叶总酚含量分别极显著高于上部叶 49.76%、54.80% ($P < 0.01$)。

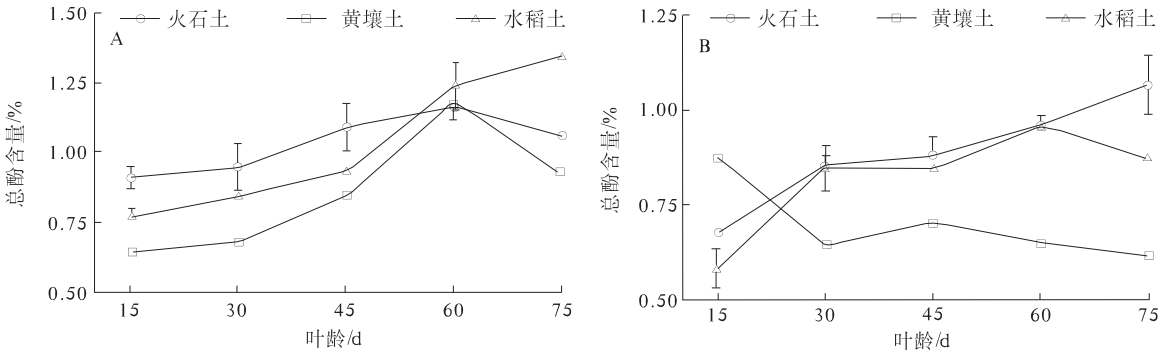


图 2 不同质地土壤植烟烟叶杀青样的总酚含量变化

2.3 不同质地土壤植烟烟叶的类胡萝卜素含量

由图 3 可知,叶龄 15~75 d,总体上火石土和水稻土植烟中部叶中类胡萝卜素含量增加较少,而黄壤土植烟增加较多。火石土和黄壤土植烟上部叶类胡萝卜素含量随叶龄增加持续降低,而水稻土植烟

上部叶类胡萝卜素含量随叶龄增加略有增加。

同一质地土壤植烟相比,火石土和黄壤土植烟叶龄 75 d 的中部叶类胡萝卜素含量比上部叶分别显著增加 36.41% 和 31.74% ($P < 0.05$),而水稻土植烟叶龄 75 d 的中部叶与上部叶没有显著差异。

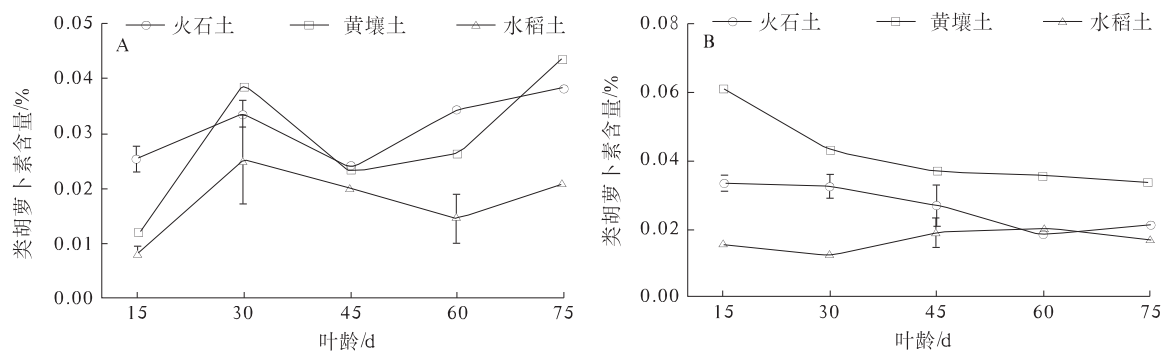


图 3 不同质地土壤植烟烟叶杀青样的类胡萝卜素含量变化

2.4 烟叶总抗氧化能力与总酚、类胡萝卜素含量的关系

将不同质地土壤、不同叶龄中部叶总抗氧化能力与总酚、类胡萝卜素含量进行多元回归分析,中部叶总酚含量与其总抗氧化能力的相关系数是 0.772 5,达到极显著水平 ($P < 0.01$),类胡萝卜素含量与总抗氧化能力的相关系数是 0.638 1,达到显著水平 ($P < 0.05$) (表 1)。表明总酚含量对总抗氧化能力影响较大,类胡萝卜素含量影响相对较小。烟叶总抗氧化能力 (Y) 与总酚含量 (X_1)、类胡萝卜素含量 (X_2) 的回归关系式是: $Y = -656.85 + 2\,270.84X_1 + 24\,615.78X_2$,达到极显著水平 ($P = 0.000\,3$),剩余因子的通径系数 = 0.506 8,决定系数 $R^2 = 0.256\,9$,表明剩余因子对总抗氧化能力的影响大约有 50.68%,用总酚、类胡萝卜素含量估测总抗氧化能力,可靠程度达 74.31%,说明总酚含量和类胡萝卜素含量是烤烟中部叶总抗氧化能力的主要构成因子,分析结果可表达各性状间的真实关系。

表 1 烤烟中部叶总酚含量、类胡萝卜素含量与总抗氧化能力的相关系数

项目	X_1	X_2	Y
X_1 (总酚含量)	1.000 0	0.365 1	0.772 5 **
X_2 (类胡萝卜素含量)		1.000 0	0.638 1 *
Y (总抗氧化能力)			1.000 0

注: *、** 分别表示显著、极显著相关,下同。

不同质地土壤植烟上部叶的总抗氧化能力仅与其总酚含量显著相关,相关系数为 0.680 8,达到极显著水平 ($P < 0.01$)。

2.5 烤后烟中性致香物质含量与抗氧化能力的关系

中部叶(3 个)和上部叶(6 个)烤后烟 9 个样品的中性致香物质含量和总抗氧化能力如表 2 所示。中桔三(C3F)和上桔二(B2F)在外观质量上均为上等烟,但除新植二烯含量外,中部叶 4 类中性致香物质含量和总抗氧化能力平均值均略高于上部叶 ($P > 0.05$)。

表 2 烤后烟中性致香物质含量和总抗氧化能力测定结果

烟叶等级	样品编号	苯丙氨酸类/ ($\mu\text{g/g}$)	棕色化产物类/ ($\mu\text{g/g}$)	类西柏烷类/ ($\mu\text{g/g}$)	类胡萝卜素类/ ($\mu\text{g/g}$)	中性致香物质总和 (不含新植二烯) /($\mu\text{g/g}$)	新植二烯/ ($\mu\text{g/g}$)	总抗氧化能力/ (U/mg)
C3F	1	19.43	21.93	34.05	88.58	163.98	1 564.00	3 503.70
	2	4.99	23.96	70.54	92.84	192.33	1 041.00	4 498.20
	3	4.58	9.39	25.50	51.91	91.38	1 009.00	3 013.75
	平均	9.67	18.43	43.36	77.78	149.23	1 204.67	3 671.88
B2F	1	5.85	16.17	30.96	66.20	119.17	1 265.00	3 895.25
	2	5.18	12.66	25.02	68.11	110.98	1 530.00	2 926.15
	3	4.58	14.63	22.84	54.55	96.61	1 267.00	2 384.30
	4	13.60	23.25	20.43	77.12	134.39	1 435.00	2 703.00
	5	14.10	23.44	29.56	94.86	161.96	1 727.00	3 869.65
	6	5.82	14.73	46.89	60.08	127.52	931.00	3 098.27
	平均	8.19	17.48	29.28	70.15	125.11	1 359.17	3 146.10

对表 2 中性致香物质含量与总抗氧化能力进行相关性分析,结果见表 3。由表 3 可见,烤后烟叶总抗氧化能力与类西柏烷类、类胡萝卜素类香气物质

含量以及不含新植二烯的中性致香物质含量总和呈显著或极显著正相关。

表 3 烤后烟各类中性致香物质含量、总抗氧化能力之间的相关系数

项目	苯丙氨酸类	棕色化产物类	类西柏烷类	类胡萝卜素类	中性致香物质总和 (不含新植二烯)	新植二烯	总抗氧化能力
苯丙氨酸类	1.00	0.66 *	-0.20	0.65 *	0.49	0.69 *	0.10
棕色化产物类		1.00	0.36	0.90 **	0.88 **	0.43	0.52
类西柏烷类			1.00	0.41	0.69 *	-0.49	0.72 *
类胡萝卜素类				1.00	0.93 **	0.54	0.68 *
中性致香物质总和 (不含新植二烯)					1.00	0.22	0.77 **
新植二烯						1.00	-0.01

3 结论与讨论

植物中的抗氧化物质种类包括 β - 葡聚糖、黄酮类化合物、多酚类化合物、生物碱、皂苷类、维生素^[2]和类胡萝卜素^[12]等。最近研究发现,烟叶中的类西柏烷类化合物也具有抗氧化能力,并具有抗菌和抗诱变作用^[13]。本研究结果显示,杀青烟叶具有较强的抗氧化能力,总酚和类胡萝卜素含量与中部烟叶的抗氧化能力呈极显著或显著正相关,用总酚、类胡萝卜素含量估测总抗氧化能力可靠程度达 74.31%,表明烟叶中主要的抗氧化物质是总酚和类胡萝卜素。烟叶的致香物质有类西柏烷类化合物、多酚类物质、高级脂肪酸和非挥发性有机酸、烟碱、质体色素(叶绿素、类胡萝卜素)等^[14],其中多酚类物质和质体色素是含量高、对烟叶香气质和香气量影响较大的成分^[15-16]。因此,烟叶的抗氧化能力强,意味着其致香物质含量高,烟叶品质好。

烟叶中性致香物质分为苯丙氨酸类、棕色化产物类、类西柏烷类、类胡萝卜素类等 4 类。其中棕色化产物类具有较强的抗氧化能力^[17]。本研究结果表明,烤后烟叶中类西柏烷类含量、类胡萝卜素类含量和不含新植二烯的中性致香物质含量总和与烟叶的抗氧化能力呈显著或极显著正相关。表明烟叶经成熟、烘烤和陈化过程,抗氧化物质降解形成的中性致香物质也具有抗氧化能力,成为烤后烟抗氧化能力的主要组成成分。

本研究结果表明,烟叶的抗氧化能力是在烟叶的整个生育过程中积累的,并不是仅在成熟期形成的。因此,在烟叶的整个生育期中都要重视烟叶内在品质的形成规律。除烤烟基因型外,同一生态环境条件下,土壤质地是影响烟叶抗氧化能力的重要因素。泸州烟区火石土和黄壤土植烟烟叶的抗氧化能力远高于水稻土。这与皖南烟区砂壤土鲜烟叶的抗氧化能力高于水稻土^[18],且砂壤土植烟烟叶的中性致香物质含量也高于水稻土,感官质量优良,焦甜香更为突出^[19]等相关研究结果一致。研究表明影

响烟叶中性致香物质的因素如植物生长调节剂^[20]、适当水分胁迫^[21]等有利于烟叶中抗氧化物质的合成和抗氧化能力的提高。火石土和黄壤土质地疏松,保水保肥能力较质地黏重的水稻土差,火石土和黄壤土植烟,烟叶易受到水分和养分胁迫,一定程度上促进了烟叶细胞中抗氧化物质的代偿性合成。

综上所述,烟叶的抗氧化能力与烟叶的品质有密切关系,可以作为衡量烟叶品质的一个重要指标,且烟叶的抗氧化能力测定方法简便,有利于烟叶收购时优质优价的开展实施。另外,重视烟叶抗氧化能力的研究也有助于提高烟草制品的安全性。

参考文献:

[1] Harman D. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry [J]. Journal of Gerontology, 1956, 11 (3): 298-300.

[2] 朱晓红,沈佳鑫,马瑞,等. 蓝莓叶水提物的体外抗氧化活性[J]. 山西农业科学, 2012, 40(8): 833-836.

[3] 成喜雨,崔馨,刘春朝,等. 中草药抗氧化活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(3): 514-518.

[4] 蔡华珍,陈守江,张丽,等. 乌骨鸡黑色素的酶法提取及其抗氧化作用的初步研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(1): 99-102.

[5] 邓书鸿. 基于化学计量学的阿胶鉴别方法及黄芪谱效关系的研究[D]. 济南: 山东大学, 2012.

[6] 于腾飞,刘屏. 天然药物中抗氧化成分研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 6(7): 106-109.

[7] 吴春,王志红. 烤烟评吸质量与主要化学成分相关及通径分析[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(11): 63-66.

[8] 左天觉,朱尊权. 烟草的生产、生理和生物化学[M]. 上海: 上海远东出版社, 1993.

[9] 周淑平,肖强,陈叶君,等. 不同生态地区初烤烟叶中重要致香物质的分析[J]. 中国烟草学报, 2004, 10 (1): 9-16.

[10] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.

[11] 于建军,刘茜,王鹏,等. 湖北环神农架区域烤烟中性致香物质分析[J]. 浙江农业学报, 2010, 22(4):

- 491-494.
- [12] 周丽,梁新乐,励建荣.类胡萝卜素抗氧化作用研究进展[J].食品研究与开发,2003,24(2):21-23.
- [13] Aqil F,Zahin M,El Sayed K A,*et al.* Antimicrobial, antioxidant, and antimutagenic activities of selected marine natural products and tobacco cembranoids[J]. Drug and Chemical Toxicology, 2011, 34(2):167-179.
- [14] 周昆,周清明,胡晓兰.烤烟香气物质研究进展[J].中国烟草科学,2008,29(2):58-61.
- [15] Chotinuchit P, Vorabhleuk S. Studies of phenolic compounds in thai flue-cured tobacco[J]. Thai Journal of Agricultural Science, 1986, 19(3):147-154.
- [16] 黄永成,宫长荣,郭瑞,等.烤烟中色素与香味物质的关系研究进展[J].河南农业科学,2008(2):5-9.
- [17] 李永富.美拉德反应产物的抗氧化功能[J].安徽农业科学,2008,36(32):13936-13937.
- [18] 季学军,张国,王道支,等.皖南不同土壤类型烤烟抗氧化能力差异分析[J].中国烟草科学,2011,32(6):26-31.
- [19] 史宏志,李志,刘国顺,等.皖南不同质地土壤烤后烟叶中性香气成分含量及焦甜香风格的差异[J].土壤,2009,41(6):980-985.
- [20] 王战义,代丽,宋朝鹏,等.植物生长调节剂对烤烟叶致香物质的影响[J].浙江农业科学,2009,50(6):1159-1162.
- [21] 王可,刘静静,刘强,等.调亏灌溉对成熟期烤烟中性致香物质的影响[J].中国农学通报,2011,27(19):105-109.

(上接第 16 页)

- [27] Jagadeeswaran G, Zheng Y, Sumathipala N,*et al.* Deep sequencing of small RNA libraries reveals dynamic regulation of conserved and novel microRNAs and microRNA-stars during silkworm development[J]. BMC Genomics, 2010, 11(1):52-69.
- [28] Liu S, Xia Q, Zhao P,*et al.* Characterization and expression patterns of let-7 microRNA in the silkworm (*Bombyx mori*) [J]. BMC Developmental Biology, 2007, 7(1):88-104.
- [29] Ling L, Ge X, Li Z,*et al.* MicroRNA Let-7 regulates molting and metamorphosis in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 53:13-21.
- [30] Jiang J, Ge X, Li Z,*et al.* MicroRNA-281 regulates the expression of ecdysone receptor (EcR) isoform B in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2013, 43(8):692-700.
- [31] 郑培明,吴锦雅,顾金保,等.白纹伊蚊 miRNA 的分离、鉴定及表达谱的初步分析[J].南方医科大学学报,2010,30(4):677-680.
- [32] Puthiyakunnon S, Yao Y, Li Y,*et al.* Functional characterization of three microRNAs of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* [J]. Parasit & Vectors, 2013, 6(1):230-239.
- [33] Mead E A, Tu Z. Cloning, characterization, and expression of microRNAs from the Asian malaria mosquito, *Anopheles stephensi* [J]. BMC Genomics, 2008, 9(9):244-256.
- [34] Liu W, Huang H, Xing C,*et al.* Identification and characterization of the expression profile of microRNAs in *Anopheles anthropophagus* [J]. Parasites & Vectors, 2014, 7(1):159-166.
- [35] Jayachandran B, Hussain M, Asgari S. An insect trypsin-like serine protease as a target of microRNA: Utilization of microRNA mimics and inhibitors by oral feeding [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2013, 43(4):398-406.
- [36] Ge X, Zhang Y, Jiang J H,*et al.* Identification of microRNAs in *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura* based on deep sequencing and homology analysis [J]. International Journal of Biological Sciences, 2013, 9(1):1-15.
- [37] Zhang X, Zheng Y, Jagadeeswaran G,*et al.* Identification and developmental profiling of conserved and novel microRNAs in *Manduca sexta* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 42(6):381-395.
- [38] Greenberg J K, Xia J, Zhou X,*et al.* Behavioral plasticity in honey bees is associated with differences in brain microRNA transcriptome [J]. Genes, Brain and Behavior, 2012, 11(6):660-670.