

烟草功能菌的研究进展

周芳芳, 周丽娟, 詹 军, 薛红芬, 史云涛, 王 娟, 张晓龙*

(云南瑞升烟草技术(集团)有限公司, 云南 昆明 650106)

摘要: 微生物菌群影响着烟草整个生育时期及后期的烘烤调制过程, 对烟草品质的形成有着重要作用。为深入认识功能菌在烟草中的应用前景, 综述了烟草相关功能菌的研究概况。其中, 生防菌的开发利用为有机烟草的种植和烟草质量的提高奠定了坚实的基础; 固氮菌、解磷菌和解钾菌等微生物肥料在烟草中的使用为烟草种植环境的改善提供了有效途径; 降解烟碱菌和产香菌的筛选、开发和利用对醇化烟叶良好品质的形成起着关键作用; 醇化烟叶中有益微生物的分离、筛选和应用, 对烟叶品质的提高、卷烟香吃味的改善具有重要作用。

关键词: 烟草; 生防菌; 微生物肥料; 降解烟碱菌; 产香菌

中图分类号: S572 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)12-0006-06

Progress on Tobacco Functional Microorganism

ZHOU Fang-fang, ZHOU Li-juan, ZHAN Jun, XUE Hong-fen, SHI Yun-tao,

WANG Juan, ZHANG Xiao-long*

(Yunnan Reacend Tobacco Technology (Group) Co., Ltd., Kunming 650106, China)

Abstract: Microbial community influences the whole growth period of tobacco and flue-curing process. In order to know the application prospect of functional microorganism, the research survey of tobacco functional microorganism was summarized in this paper. It provides strong basis for planting organic tobacco and improving tobacco quality by development and utilization of biocontrol bacteria. The utilization of microbial fertilizer, like azotobacter, phosphate and potassium solubilizing microorganisms, is an effective way to improve tobacco planting environment. Besides, screening, development and utilization of nicotine-decomposing microorganism and aroma-enhancing microorganism play a key role in forming good quality during tobacco aging. It is very valuable that separation, screening and utilization of beneficial microorganisms from aging tobacco leaves improve tobacco quality and smoke flavor.

Key words: tobacco; biocontrol bacteria; microbial fertilizer; nicotine-decomposing microorganism; aroma-enhancing microorganism

烟草是我国主要的经济作物之一, 目前烟草税收已占到我国财政总收入的 $1/10^{[1]}$, 对我国财政收入具有重要贡献。但在烟草生产过程中存在诸多问题, 如烟草病虫害的发生、植烟环境的恶化、醇化过程烟叶受到有害微生物的影响等。利用功能菌等有益微生物解决上述问题不仅能够减轻烟叶有害成分对人体的伤害和对环境的污染, 还有利于改善植烟

环境, 优化醇化工艺, 最终达到提高烟叶品质的目的, 成为烟草可持续发展的必然趋势。目前, 关于功能菌研究较多的是生防菌、固氮菌、解磷菌、解钾菌、降烟碱菌和产香菌的分离、筛选以及开发利用, 但其在烟草上的应用还不是很广泛, 鉴于此, 对目前各类烟草功能菌的研究进展进行概述和总结, 有助于研究人员跟踪烟草功能菌的研究动态, 为我国烟草功

收稿日期: 2013-06-20

基金项目: 中国烟草总公司云南省分公司项目(2012YN35)

作者简介: 周芳芳(1985-), 女, 内蒙古丰镇人, 农艺师, 硕士, 主要从事烟草微生物研究。E-mail: zff912@163.com

* 通讯作者: 张晓龙(1978-), 男, 云南嵩明人, 工程师, 博士, 主要从事品牌烟叶原料研究。E-mail: wllqx@163.com

能菌的进一步研究利用提供方法和奠定基础。

1 烟草生防菌

烟草是受病虫害影响较大的作物之一,在苗期和大田期均会受到多种病虫害的危害^[2]。据不完全统计,我国烟草每年因病害造成的经济损失约 7 亿元。大多数病害传播速度快,易造成严重损失,单靠化学农药进行防治难以奏效,且化学农药的过量使用易导致病原物抗药性增强和再猖獗。此外,农药残留量大,对人体健康产生危害,并破坏生态平衡。生物防治作为烟草病害防治的重要组成部分,具有无污染、无公害、长效性等优点,在有机烟草的种植中起着关键作用。生物农药的使用可降低烟叶中农药残留量,提高烟叶品质,减轻对人体的危害,此方法也将逐步成为生物防治植物病虫害的主要手段。因此,大力开展生物防治是解决烟草病害的长效、健康、安全的方法。

1.1 抗真菌功能微生物的分离、筛选

目前,在烟草真菌病害的生物防治上,研究较多的主要有赤星病、黑胫病、立枯病、根黑腐病等。采用生物防治的方法解决烟草真菌病害主要是使用微生物及其代谢产物。1983 年,王家和^[3]从烟草根际土壤中分离筛选获得根部病害的拮抗菌,经拮抗活性测定,有 34 株菌株对烟草黑胫病、立枯病、根黑腐病和猝倒病有拮抗作用。之后,丁爱云等^[4]分离获得对烟草赤星病有拮抗作用的细菌 16 株、放线菌 10 株,展丽然等^[5]筛选出 4 株拮抗烟草赤星病的放线菌菌株,对赤星病的抑制效果显著,极大地丰富了烟草赤星病的拮抗菌资源库。王革等^[6]利用对峙试验和诱捕法筛选到 1 株对赤星病有极强拮抗作用的木霉菌株 TV-1,经大田防效试验表明,TV-1 制成的菌剂对烟草赤星病的防效为 60.57%~70.53%。另有研究^[7]表明,木霉菌对烟草黑胫病也有很好的防治效果。Broadbent^[8]研究表明,对烟草黑胫病菌具有拮抗作用的细菌分为两大类:假单胞杆菌(*Pseudomonas* spp.)和芽孢杆菌(*Bacillus* spp.),其主要通过产生抗菌素而使烟草黑胫病菌菌丝溶解,而且有些菌株还有促生作用^[9]。王远山等^[10]研究了假单胞菌 PL9 对烟草黑胫病的拮抗作用,结果表明,该菌株不仅对烟草黑胫病菌菌丝体有很强的抑制作用,同时可以完全抑制烟草黑胫病菌游动孢子对烟草幼苗的侵染,且其液体培养物浓缩过滤液也有相同的抑制作用。王万能^[11]从烟草根茎叶内分离烟草内生细菌,经过初筛、复筛及最后的病害防效试验,得到 3 株对烟草黑胫病具有较好防

效的菌株,其中菌株 118 的防效最为显著,进一步研究显示,菌株 118 对烟草黑胫病的防治机制与假单胞菌 PL9^[10]相似。

1.2 抗细菌功能微生物的分离、筛选

目前,关于烟草细菌性病害生物防治研究较多的是烟草青枯病、野火病。姬广海等^[12]从烟草根际土和烟叶表面上同时分离到野火病致病菌和拮抗菌,盆栽试验和活体筛选试验结果表明,有 6 株生防菌株的防效大于 50%。另有研究^[13]表明,荧光假单胞杆菌 PF7-5 及其代谢产物对烟草野火病均具有良好的防治效果,而且在病害发生前使用该药剂效果更好。

张竹青等^[14]从烟草根际和根表土壤中分离筛选出 7 株拮抗青枯病菌的菌株,田间试验发现,其中 3 株对烟草青枯病防效较好,同时发现,其对茄子青枯病也表现出很好的防治效果,且防效稳定,是开发防治茄科作物青枯病制剂的良好微生物资源。孔凡玉等^[15]筛选出对烟草青枯病具有拮抗作用的 1 个芽孢杆菌和 2 个假单胞杆菌,对青枯病的防效在 70%以上。易有金等^[16]也成功获得 2 株对青枯病有良好拮抗作用的内生短芽孢杆菌 011 和 099,室内防效分别达 87.25%和 52.30%,田间小区试验发现,菌株 011 的防效显著高于农用链霉素。对不同感抗青枯病的烟草品种内生细菌的变化进行研究^[17],结果表明,在不同生育时期,烟草抗病品种中内生细菌的总数量以及对青枯病菌具有拮抗作用的内生细菌数量均高于感病品种,且部分内生细菌具有促进烟草种子萌发和防治烟草青枯病的作用。烟草青枯病的生物防治研究已取得重大成绩,成功研制的微生物制剂——青枯散,能够有效防止土壤中青枯病菌侵染烟草幼苗根部并阻止潜伏病原菌致病,从而控制烟草青枯病的发生^[18]。

2 固氮、解磷及解钾菌

随着烟草种植过程中化学肥料施用量的逐年增加,出现了烟叶质量下降、土壤养分比例失调及土壤板结等一系列问题,为烟草生长提供一个良好的土壤微生态环境势在必行。近年来,土壤微生物种群、数量及分布作为评价土壤生态环境质量的指标越来越受到重视^[19]。积极发掘和利用烟草根际微生物,分离筛选固氮菌、解磷菌及解钾菌来改善植烟环境和烟草微生态环境,可为烟草的可持续发展提供良好的基础。

早在 1994 年,何金旺^[20]发现,施用钾细菌肥料能使烟叶落黄速度加快,成熟度提高,烤后烟叶金黄

至橘黄,烟叶还原糖、总氮和氯离子含量略有减少,烤烟品质优良。之后,阎启富^[21]针对山地烤烟缺氮的现状,将共生性固氮菌应用于山地烤烟,使烟株株高、茎围以及烟叶产量、质量、经济效益均显著提高。范书华^[22]研究表明,生物磷、钾肥可以增强烟株抗病性,增加烟草产值,提高经济效益,明显提升烟叶内在质量,使香气增加、余味舒适、杂气和刺激性减轻。王超^[23]在研究植烟土壤中根际细菌时,分离到固氮菌 10 个、解磷细菌 10 个和解钾细菌 6 个。刘训理等^[24]研究表明,不同肥力的烟区都能够分离到根际自生固氮菌、解磷细菌和解钾细菌,而且不同的植烟土壤中所分离的微生物种类及数量有很大差异,根际土壤中固氮菌、解磷细菌及解钾细菌含量均显著高于非根际土壤,肥沃土壤中各类功能菌含量也明显高于贫瘠烟区^[24-25]。徐洁等^[26]发现,烟草根际土中含有丰富的解磷菌和解钾菌。由此可见,微生物肥料的使用不仅能够改善土壤物理化学性质,还能有效提高烟叶品质。

目前,关于烟草根际固氮菌、解磷菌和解钾菌的研究还较少,且不够深入。烟草微生物肥料的开发和应用更少,因此,今后应加强烟草根际固氮菌、解磷菌及解钾菌的研究和应用,以改善烟草种植生态环境,提高烟叶品质,进而实现烟草的可持续发展。

3 降烟碱微生物

烟碱俗名尼古丁,是烟草中主要的生物碱,也是烟叶中的主要有害成分之一,其不仅直接危害人体健康,而且是烟叶和烟气中主要致癌成分烟草特有亚硝胺(TSNA)的重要前体物^[27]。烟碱也是环境有毒物质,在烟草加工过程中会产生大量含有高浓度烟碱等生物碱的固、液、气态废物,这种废物被认为是“有毒的危险废物”^[28],如不经处理直接排放会严重污染环境。因此,降低烟叶和环境中烟碱含量,对于维护人类的健康和保护生态环境有着极为重要的意义。

国外很早就开始利用微生物降解烟叶和环境中的烟碱含量,这些微生物能在不影响烟叶原有品质的基础上有效降低烟碱含量,从而降低烟碱对人体和环境的危害性。目前,国内在此方面的基础研究及应用研究较少^[29-30],使烟草降焦解害关键技术的开发和应用受到限制,因此,亟待加强该方面的研究。

1978 年, Brown & Williamson 烟草公司开始利用纤维单胞菌来降解烟草中的烟碱和亚硝酸盐^[31]。之后, Kasaki^[32]研究了烟叶表面细菌对烟叶中烟碱

的降解情况。Uchida 等^[33]采用以烟碱为唯一氮源的培养基成功分离到降解烟碱的细菌,经鉴定,这些细菌为争论产碱菌(*Alcaligenes paradoxus*)和球形节杆菌(*Athrobacter globiformis*)。Tashiro 等^[34]从 44 个含有烟碱的土壤和废水中获得 57 种降烟碱细菌,这些菌株都呈短棒状,能够在烟碱为唯一碳氮源的培养基上正常生长,且能有效降解土壤和废水样品中的烟碱。Civilini 等^[35]利用嗜烟碱微生物恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)和氧化节杆菌(*Arthrobacter oxidans*)处理卷烟制造过程中产生的废弃物,结果表明,这些微生物具有很好的降烟碱能力,并发现假单胞菌的降烟碱能力强于氧化节杆菌。郑小嘎等^[36]研究发现,用从烟叶表面分离的真菌液体培养物处理烟株上部烟叶,可使烟叶烟碱含量降低 14%~20%。袁勇军等^[37]从福建三明地区的土壤中分离得到 1 株高效降解烟碱的菌株 DN2,经鉴定属于 α 变形杆菌纲,该菌能够在以烟碱为唯一氮源的培养基上生长,对质量浓度为 500 mg/L 的烟碱的降解速率为 15 mg/(L·h),36 h 烟碱降解率为 97.65%。李雪梅等^[38]通过分离获得强降烟碱菌株 Nic22,对该菌株的生理特性进一步研究发现,适量添加淀粉和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 作为外源氮源,可显著促进 Nic22 对烟叶中烟碱的降解,并能有效降低上部烟叶的杂气和刺激性,提高烟叶抽吸品质。李梅云等^[39]用微生物菌株培养液喷洒采收后的上、中部烟叶,发现中部烟叶尼古丁的降解率达 36.9%,上部烟叶尼古丁的降解率达 37.25%,处理后烟叶的香气品质明显改善,劲头和刺激性下降。

烟草中烟碱大部分是以有机酸盐的状态存在,自由态烟碱少量存在,有机酸盐的化学性质较稳定,不易自然降解,微生物降解以其安全、高效、可持续等优点显示出巨大的发展潜力。

4 烟草增香增质菌

利用微生物诱导烟叶产生香气物质的研究开展较晚,20 世纪 60 年代,发达国家才开始这方面的研究工作。1953 年, Tamayo 等^[40]最先利用微生物接种烟叶来增加香气,指出芽孢杆菌和小球菌可明显改善烟叶香气。之后, Koller^[41]也尝试了利用微生物接种烟叶以增加烟叶香气、改善烟叶吸味品质。Dawson^[42]研究表明,嗜热性放线菌属菌株在低湿度的陈化烟叶中生长缓慢,但可使陈化烟叶中产生一种令人愉悦的香气。Reid 等^[43]、English 等^[44]和 Giovannozzi^[45]发现,烟叶中的芽孢杆菌、嗜热细菌和小球菌对烟叶香气和品质的改善是有益和必要

的。Izquierdo^[46]采用微生物接种烟叶,使烟叶抽吸品质得到改善,尤其是采用微球菌属(*Mirococcus*)或杆菌属(*Bacillus*)菌株或两者的混合物接种烟叶时,效果更为显著。

在我国,利用微生物产香技术来改善烟叶品质及解决香料生产瓶颈的研究也取得了很多成果。朱大恒等^[47]提出一种利用产香微生物发酵定向生产烟用香料的技术,采用该技术生产的烟用香料能够显著改善卷烟香气,减轻卷烟杂气和刺激性,具有重要的开发和应用价值。黄静文等^[48]利用短小芽孢杆菌 Van35 处理烟叶,具有明显的提调烟香、细腻醇和烟气、降低刺激性、掩盖杂气和改善卷烟吸味等效果。王革等^[49]利用从烟草上分离得到的产香菌(*Bacillus* sp.)处理烟叶,处理后烟叶蛋白质、烟碱、焦油及粒香物含量均较对照显著下降,而总糖、还原糖含量上升,且处理后的单体烟与配方卷烟香气量充足、香气质细腻、香气透发、劲头适中,刺激性降低,余味干净程度好、舒适,香味成分主要为半挥发性的棕榈酸,与赵铭钦等^[50]、黄静文等^[51]的研究结果相似。

利用产香微生物生产烟用香料或在醇化过程中接入产香微生物是开发烟用香料的新途径,也为充分利用醇化过程提高烟叶品质和缩短醇化时间提供了新途径,这些技术对降低企业成本、提高和改善烟叶质量及创造更高经济价值具有重要意义。

5 烟叶醇化过程中的微生物

烟叶醇化是烟草加工过程中改善烟叶品质的一个重要环节,关于醇化机制,目前主要有 3 种学说:纯化学变化、微生物作用、酶催化。随着人们对烟叶醇化作用认识的加强,微生物对烟叶醇化作用的研究已成为烟叶醇化研究的热点问题。

醇化烟叶表面的微生物主要类群包括细菌、放线菌和霉菌^[52],其中细菌数量最多^[53-54]。朱大恒等^[55]对人工和自然醇化烟叶表面的微生物数量变化进行研究,发现芽孢杆菌属(*Bacillus*)和梭菌属(*Clostridium*)为细菌优势菌群。祝明亮^[56]则以醇化烟叶为材料,通过富集培养法获得 29 株酵母菌,对其生物学特性进行研究,结果表明,多数酵母菌能够产生各种香气物质,有利于烟叶醇化。单宏英等^[57]从醇化烟叶表面分离到 1 株高效降解 TSNA 的菌株 AS97,并对其形态、生理生化特性及 16S rRNA 进行研究,结果表明,其属荧光假单胞杆菌(*Pseudomonas fluorescens*),对硝酸盐和亚硝酸盐具有很好的转化能力。杨金奎等^[58]以不同醇化时

间的烟叶为材料分离和培养各类微生物,并以分子生物学方法进行种、属和系统发育关系分析,发现醇化烟叶表面的细菌主要包括芽孢杆菌和肠杆菌 2 个类群,其中芽孢杆菌属为优势微生物类群,而肠杆菌属细菌则不利于烟叶的发酵,因此要尽量减少和控制肠杆菌属细菌的数量。

醇化烟叶表面的微生物资源具有较大的应用潜力,筛选和利用芽孢杆菌属、荧光假单胞杆菌及其他有益微生物,不仅能够降低吸烟对人体的伤害,还能有效改善卷烟香吃味,提高烟叶品质,可为新型卷烟的开发、利用提供新的途径。

6 展望

烟草中功能菌的研究、开发和应用已成为烟草行业可持续发展的必然趋势。生物农药是一种高效、安全和长久的绿色生防药剂,可以从根本上解决烟草中农药残留问题,降低对人体的伤害^[59-61]。烟草微生态环境对其品质的形成具有重要作用,目前,我国植烟土壤由于化学肥料使用量逐年增加导致烟草种植环境逐步恶化,通过研制固氮、解磷及解钾菌的微生物肥料改善烟草土壤生态环境是保持生态平衡的有效手段。在降解烟碱和增香增质方面,将微生物开发为醇化剂对醇化过程中的烟叶进行处理,可明显改善其品质及香吃味。虽然微生物对烟叶醇化发挥着重要作用,能够有效提高烟叶品质、降低烟碱含量,但其研究深度不够、应用范围有限,尚待于进一步加强相关研究。

参考文献:

- [1] 任怀玉. 中国烟草业可持续发展的必由之路,加强烟草业的科技研发与应用[J]. 甘肃农业,2005(11):99.
- [2] 魏治忠. 山西烟草主要病害及其防治[J]. 山西农业科学,1991,19(10):32-34.
- [3] 王家和. 烟草根病拮抗真菌的分离与筛选[J]. 中国生物防治,1998,14(1):28-31.
- [4] 丁爱云,郑继法,时呈奎,等. 烟草几种重要病害拮抗菌的筛选[J]. 中国烟草科学,1999,20(1):10-11.
- [5] 展丽然,张克诚,冉隆贤,等. 烟草赤星病菌拮抗放线菌的筛选与鉴定[J]. 华北农学报,2008(S1):230-233.
- [6] 王革,方敦煌,马永凯,等. 云南省烟草赤星病菌致病力分化及生物防治研究[J]. 中国烟草学报,2000,6(4):31-37.
- [7] 李云梅,李天飞,刘开,等. 烟草黑胥病木霉生防菌株的筛选[J]. 中国烟草科学,2001,22(2):43-46.
- [8] Broadbent P. Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soil[J]. Aust J Biol

- Sci, 1971, 24(4): 925-944.
- [9] 方敦煌, 顾金刚, 李江涛, 等. 烟草黑胫病菌的拮抗根际细菌的筛选[J]. 云南农业大学学报, 2001, 16(2): 93-95.
- [10] 王远山, 王平, 胡正嘉, 等. 绿针假单胞菌 PL9 菌株对烟草黑胫病菌的拮抗作用研究[J]. 华中农业大学学报, 2002, 21(3): 248-251.
- [11] 王万能. 烟草内生细菌对烟草黑胫病的防治作用及其机理的研究[D]. 重庆: 西南农业大学, 2003.
- [12] 姬广海, 魏兰芳, 夏贤仁. 防治烟草野火病拮抗细菌菌株的筛选[J]. 西南农业大学学报, 2005, 27(2): 293-296.
- [13] 万秀清, 郭兆奎, 乔婵, 等. PF7-5 对烟草野火病的抑制及田间防治效果[J]. 病虫害防治, 2009(10): 58-60.
- [14] 张竹青, 罗宽, 高必达, 等. 烟草青枯病生防细菌发酵培养条件研究[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 1999, 25(2): 143-146.
- [15] 孔凡玉, 赵廷昌, 张成省, 等. 防治烟草青枯病生防菌筛选及田间防治试验研究[C]//农业生物灾害预防与控制研究. 北京: 中国农业科技出版社, 2005: 684-686.
- [16] 易有金, 尹华群, 罗宽, 等. 烟草内生短芽孢杆菌的分离鉴定及对烟草青枯病的防效[J]. 植物病理学报, 2007, 37(3): 301-306.
- [17] 周岗泉, 张建华, 陈泽鹏, 等. 烟草内生细菌及其对烟草青枯病的生物防治研究[J]. 中国烟草, 2008(2): 31-34.
- [18] 王海波. 两株烟草黑胫病和青枯病拮抗菌的诱变选育[D]. 重庆: 西南大学, 2009.
- [19] 章家恩, 刘文高, 胡刚. 不同土地利用方式下土壤微生物数量与土壤肥力的关系[J]. 土壤与环境, 2002, 11(2): 140-143.
- [20] 何金旺. 生物钾肥对烤烟产量和品质的影响[J]. 广西农业科学, 1994(2): 77.
- [21] 阎启富. 共生性固氮菌在山地烤烟上的应用[J]. 烟草科技, 1997(4): 39.
- [22] 范书华. 生物磷、钾肥在晒烟生产上的应用[J]. 延边大学农学学报, 2002, 24(1): 23-25.
- [23] 王超. 烟草根际促生细菌研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2005.
- [24] 刘训理, 王超, 吴凡, 等. 烟草根际微生物研究[J]. 生态学报, 2006, 26(2): 553-557.
- [25] 刘国顺, 杨超, 祖朝, 等. 不同类型植烟土壤微生物动态变化分析[J]. 中国烟草学报, 2007, 13(5): 38-43.
- [26] 徐洁, 罗华元, 常寿荣, 等. 烟草根际土壤微生物区系分析及其相关性研究[J]. 西南农业学报, 2011, 24(6): 2279-2284.
- [27] 刘俊军. 烟草降碱技术研究进展[J]. 现代农业科技, 2013(11): 19-20.
- [28] Civilini M, Domenis C, Sebastianutto N. Nicotine decontamination of tobacco agro-industrial waste and its degradation by microorganisms [J]. Waste Manage Res, 1997, 15: 349-358.
- [29] 刘萍, 张广民, 郑小嘎, 等. 烟叶表面微生物及其应用[J]. 微生物学通报, 2003, 30(6): 105-110.
- [30] 朱大恒, 陈锐, 陈再根, 等. 烤烟自然醇化与人工发酵过程中微生物变化及其与酶活性的关系研究[J]. 中国烟草学报, 2001, 7(2): 26-30.
- [31] Gravely L E, Geiss V L, Gregory C F, *et al.* Process for reduction of nitrate and nicotine content of tobacco by microbial treatment; US, 4557280[P]. 1978-07-15.
- [32] Kisaki M. Microbial degradation of nicotine-1'-N-oxide[J]. Agric Biol Chem, 1981, 45(3): 565-569.
- [33] Uchida S, Maeda S, Masubuchi K, *et al.* Isolation of nicotine degrading bacteria and degradation of nicotine in shredded tobacco and tobacco extract[J]. Sci Pap, 1976, 118: 197-201.
- [34] Tashiro Y, Yu J, Yonemura, *et al.* Pure isolation of nicotine-degrading microbes [J]. Kyushu Kyoritsu Daigaku Kenkyu Hokoku, 1996, 20: 147-155.
- [35] Civilini Marcello, Domenis C, Sebastianutto N. Nicotine decontamination of tobacco agro-industrial waste and its degradation by microorganisms [J]. Waste Manage Res, 1997(15): 349-358.
- [36] 郑小嘎, 张修国, 张天宇, 等. 真菌菌剂改善烟叶品质的初步研究[J]. 微生物学报, 2003, 30(6): 10-13.
- [37] 袁勇军, 陆兆新, 黄金丽, 等. 烟碱降解细菌的分离、鉴定及其降解性能的初步研究[J]. 微生物学报, 2005, 45(2): 181-183.
- [38] 李雪梅, 杨伟祖, 祝明亮, 等. 烟碱降解菌的选育及改善上部烟叶品质研究[J]. 工业微生物, 2006, 36(1): 16-22.
- [39] 李梅云, 雷丽萍, 郭荣君, 等. 微生物对烤烟叶片烟碱含量的影响[J]. 食品科学, 2006, 22(9): 94-96.
- [40] Tamayo A I, Cancho F G. Microbiology of the fermentation of Apanish tobacco[J]. International Congress of Microbiology, 1953(6): 48-50.
- [41] Koller J B C. Der tabak in naturwissenschaftlicher [M]. Augsburg: Landwirtschaftlicher and Technischer Beziehung, 1858.
- [42] Dawson R F. Talk on the cigarette filler symposium [M]. Kansas: Philip Morris Tobacco Company, 1965.
- [43] Reid J J, Gribbons M F, Haley D E. The fermentation of cigar-leaf tobacco as influenced by the addition of yeast[J]. J Agric Research, 1944, 69: 373-381.

(下转第 15 页)

- cytochrome b(6)/f-complex[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2001, 1506: 127-132.
- [7] Oettmeier W. Herbicide resistance and supersensitivity in photosystem[J]. *Cell Mol Life Sci*, 1999, 55: 1255-1277.
- [8] 彭娟莹, 杨仁斌. 联吡啶类除草剂的作用机制及环境行为[J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25(增刊): 435-437.
- [9] 李理, 叶菲. 除草剂中光合作用抑制剂的研究[J]. *农药科学与管理*, 2010, 31(12): 25-28.
- [10] Kohno H, Katsuyama N, Watanabe H, *et al.* Callus systems to assay herbicidal peroxidation. Effects of peroxidizing herbicides on habituated tobacco, *Nicotiana glutinosa*, green cell cultures[J]. *Shokubutsu Soshiki Baiyo*, 1994, 11(1): 49-54.
- [11] Reinbothe S, Reinbothe C. Regulation of chlorophyll biosynthesis in angiosperms[J]. *Plant Physiol*, 1996, 111(1): 1-7.
- [12] Wettstein D, Gough S, Wild A. Chlorophyll biosynthesis[J]. *Plant Cell*, 1995, 7: 1039-1057.
- [13] 周宇涵, 苗蔚荣, 程倡柏, 等. 原卟啉原氧化酶抑制类除草剂研究进展[J]. *农药学学报*, 2002, 4(1): 1-8.
- [14] 朱晓磊, 杨光富. 以对羟基苯基丙酮酸双氧化酶为作用靶标的除草剂研究进展[J]. *世界农药*, 2005, 27(5): 19-24.
- [15] 杨丽, 张荣全, 叶非. 对羟基苯基丙酮酸双氧化酶抑制剂的研究进展[J]. *现代农药*, 2003(2): 1-4.
- [16] 于澄宇, 何蓓如. 植物乙酰乳酸合成酶抑制剂作用方式及机理研究进展[J]. *农药学学报*, 2011, 13(3): 221-227.
- [17] 王秀君, 郎志宏, 单安山, 等. 氨基酸生物合成抑制剂类除草剂作用机理及耐除草剂转基因植物研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2008, 28(2): 110-116.
- [18] Pang S S, Guddat L W, Duggleby R G. Molecular basis of sulfonylurea herbicide inhibition of aceto-hydroxyacid synthase[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 7639-7644.
- [19] McCourt J A, Pang S S, King-Scott J, *et al.* Herbicide-binding sites revealed in the structure of plant aceto-hydroxyacid synthase[J]. *PNAS*, 2006, 103: 569-573.
- [20] Ahmed S I, Giles N H. Organization of enzymes in the common aromatic synthetic pathway: Evidence for aggregation in fungi[J]. *J Bacteriol*, 1969, 99(1): 231-237.
- [21] 苏少泉. 除草剂概论[M]. 北京: 科学出版社, 1989: 279-298.
- [22] Delye C, Zhang X Q. Molecular basis for sensitivity to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in black-grass[J]. *Plant Physiology*, 2005, 137(3): 794-806.
- [23] Tong L. Acetyl-coenzyme A carbonxylase: Crucial metabolic enzyme and attractive target for drug discovery[J]. *Cellular and Molecular Life Science*, 2005, 62: 1784-1803.
- [24] 衣克寒, 付颖, 叶非. 乙酰辅酶 A 羧化酶抑制剂的构效关系和抗性研究进展[J]. *植物保护*, 2012, 38(1): 11-17.

~~~~~

(上接第 10 页)

- [44] English C F, Bell E J, Berter A J. Isolation of thermophiles from broad leaf tobacco and effect of pure culture inoculation on cigar aroma and mildness[J]. *Applied Microbiology*, 1967(1): 117-119.
- [45] Giovannozzi. Industrial experiments of fermentation with addition of microbic cultures[J]. *Tobacco*, 1947, 51: 6-15.
- [46] Izquierdo T A. Bacteria in tobacco fermentation[J]. *T A*, 1958(2): 2146.
- [47] 朱大恒, 韩锦峰, 周御风, 等. 利用产香微生物发酵生产烟用香料技术及其应用[J]. *烟草科技*, 1997(1): 30-31.
- [48] 黄静文, 段焰青, 杨金奎, 等. 短小芽孢杆菌改善烟叶品质的研究[J]. *烟草科技*, 2010(8): 61-64.
- [49] 王革, 马永凯, 马翔, 等. 一株烟草产香菌的生物学特性、香产物分析及在烟草定向改造上的运用[J]. *云南烟草*, 2003(4): 35-41.
- [50] 赵铭钦, 邱立友, 刘伟城, 等. 烤烟发酵增香菌株的鉴定和初步应用研究[J]. *黑龙江烟草*, 1999, 18(3): 17-20.
- [51] 黄静文, 段焰青, 杨金奎, 等. 烟叶主要致香成分和烟叶等级以及醇化时间的对比分析[J]. *江西农业大学学报*, 2010, 32(3): 440-445.
- [52] 韩锦峰, 朱大恒, 刘卫群. 陈化发酵期间烤烟叶面微生物活性及其应用研究[J]. *中国烟草科学*, 1997, 18(4): 13-14.
- [53] 谢和, 韩忠礼, 赵维娜. 微生物发酵对烤烟内在品质的影响[J]. *山地农业生物学报*, 1999, 18(4): 227-230.
- [54] 厉昌坤. 自然醇化过程中烤烟叶面微生物变化及应用研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
- [55] 朱大恒, 陈锐, 陈再根, 等. 烤烟自然醇化与人工发酵过程中微生物变化及其与酶活性关系的研究[J]. *中国烟草学报*, 2001, 7(2): 26-30.
- [56] 祝明亮. 醇化烟叶酵母菌分离鉴定及其生物学特性研究[J]. *工业微生物*, 2006, 36(2): 22-25.
- [57] 单宏英, 陈德鑫, 李晶, 等. 一株源于醇化烟叶表面高效降解菌株的分离筛选鉴定及应用[J]. *微生物学报*, 2011, 51(10): 1326-1333.
- [58] 杨金奎, 段焰青, 陈春梅, 等. 醇化烟叶表面可培养微生物的鉴定和系统发育分析[J]. *烟草科技*, 2008(11): 51-55.
- [59] 张万红. 植物病害生物防治的作用机理及应用[J]. *现代农业科技*, 2012(19): 130.
- [60] 罗茗月, 路雪君, 廖晓兰. 植物内生细菌的应用研究进展[J]. *现代农业科技*, 2010(7): 11-12.
- [61] 王栋, 伏晓, 韩新宇, 等. 烟草黑胫病菌拮抗细菌的筛选与鉴定[J]. *现代农业科技*, 2012(19): 133-134.