2026, 66(10): 4855-4870
CSTR: 32112.14.j.AMS.20250855
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20250855

微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

Research Article 研究报告

产果香型酵母筛选及其发酵对烟叶微生物群落的影响

王显平[1]，周家喜[1]，申娟[1]，胡晓娟[1]，吴有翔[2]，王芳[2]，杨洋[2]，杨盛刚[2]，刘京[3]，芶剑渝[3*]，邹晓[1*]

1 贵州大学 生命科学学院，贵州 贵阳
2 贵州中烟工业有限责任公司，贵州 贵阳
3 贵州烟草公司遵义分公司，贵州 遵义

王显平, 周家喜, 申娟, 胡晓娟, 吴有翔, 王芳, 杨洋, 杨盛刚, 刘京, 芶剑渝, 邹晓. 产果香型酵母筛选及其发酵对烟叶微生物群落的影响[J]. 微生物学报, 2026, 66(10): 4855-4870.
WANG Xianping, ZHOU Jiaxi, SHEN Juan, HU Xiaojuan, WU Youxiang, WANG Fang, YANG Yang, YANG Shenggang, LIU Jing, GOU Jianyu, ZOU Xiao. Screening of fruit-flavored yeast strains and their fermentation effects on the microbial community of tobacco leaves[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(10): 4855-4870.

摘　要：【目的】为提升复烤烟叶的风味品质并探索新型发酵微生物资源。【方法】从市售巨峰葡萄中分离筛选获得一株具有明显产果香能力的酵母菌株 PT-1，经 rDNA-ITS 序列鉴定为汉逊德巴利酵母(*Debaryomyces hansenii*)。将该菌株应用于复烤烟叶的发酵中，按烟叶质量的 4% 量取酵母悬液并喷施于烟叶，系统评估其对烟叶化学成分、感官品质及微生物群落结构的影响。【结果】接种汉逊德巴利酵母后，烟叶中总糖和还原糖分别增加 0.85% 和 0.46%，而总植物碱和总氮分别降低 0.07% 和 0.05%；感官评吸结果显示，处理组在香气质、甜感和余味等指标上均优于对照。高通量测序结果显示，接种后烟叶表面细菌多样性基本稳定，而真菌多样性显著下降，群落结构显著简化，德巴利酵母属占据绝对优势(99.66%)。相关性分析表明，汉逊德巴利酵母与总糖、还原糖、香气质、甜感等呈显著正相关，与总氮、总植物碱和劲头呈负相关，提示其可能与烟叶品质改善相关。【结论】本研究拓展了产香酵母的菌种资源，验证了 *D. hansenii* 在烟叶发酵中的应用潜力；该发酵工艺具有成本低、工艺简便、调香效果明显等优势，为构建高效可控的功能微生物发酵体系提供了理论依据和实践基础。

关键词：果香型酵母；定向发酵；复烤烟叶；化学成分；感官评价；真菌群落结构

资助项目：贵州省烟草公司遵义市公司重点研发项目(2022XM18)
This work was supported by the Key Research and Development Project of Zunyi Company, Guizhou Provincial Tobacco Company (2022XM18).
*Corresponding authors. E-mail: ZOU Xiao, xzou@gzu.edu.cn; GOU Jianyu, goujianyu33@126.com
Received: 2025-11-15; Accepted: 2026-06-18; Published online: 2026-07-07

Screening of fruit-flavored yeast strains and their fermentation effects on the microbial community of tobacco leaves

WANG Xianping[1], ZHOU Jiaxi[1], SHEN Juan[1], HU Xiaojuan[1], WU Youxiang[2], WANG Fang[2], YANG Yang[2], YANG Shenggang[2], LIU Jing[3], GOU Jianyu[3*], ZOU Xiao[1*]

1 College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang, Guizhou, China
2 China Tobacco Guizhou Industrial Co., Ltd., Guiyang, Guizhou, China
3 Guizhou Tobacco Company Zunyi Branch, Zunyi, Guizhou, China

Abstract: [Objective] To improve the flavour quality of redried tobacco leaves and explore new microbial resources for fermentation. **[Methods]** A yeast strain PT-1 with pronounced fruit-aroma-producing ability was isolated and screened from commercially available Kyoho grapes. It was identified as *Debaryomyces hansenii* through rDNA-ITS sequence analysis. This strain was applied to the fermentation of redried tobacco leaves. By treating the tobacco leaves with a yeast suspension at an application rate equivalent to 4% of the tobacco leaf mass, we systematically evaluated the effects on the chemical composition, sensory quality, and microbial community structure of the tobacco leaves. **[Results]** After inoculation with *D. hansenii*, the total sugar and reducing sugar contents in tobacco leaves increased by 0.85% and 0.46%, respectively, while the total alkaloids and total nitrogen decreased by 0.07% and 0.05%, respectively. Sensory evaluation results indicated that the treatment group was superior to the control group in terms of aroma quality, sweetness, and aftertaste. High-throughput sequencing results showed that the bacterial diversity on the surface of tobacco leaves remained relatively stable after inoculation, while the fungal diversity significantly decreased. The microbial community structure was markedly simplified, with *Debaryomyces* becoming the overwhelmingly dominant genus (99.66%). Correlation analysis showed that *D. hansenii* was significantly positively correlated with total sugar, reducing sugar, aroma quality, and sweetness, and was negatively correlated with total nitrogen, total alkaloids, and strength, suggesting a potential association with improved tobacco leaf quality. **[Conclusion]** This study expands the pool of aroma-producing yeast resources and verifies the application potential of *D. hansen*i in tobacco leaf fermentation. The process is simple and low-cost, with a clear flavour-modulating effect. These findings provide a theoretical basis and a practical foundation for constructing an efficient and controllable functional microbial fermentation system.

Keywords: fruit-aroma-producing yeast; directed fermentation; redried tobacco leaves; chemical composition; sensory evaluation; fungal community structure

烟叶作为卷烟的主要原料，其质量直接影响卷烟的风味及消费者对卷烟的接受度[1]。为了改善烟叶的感官品质和降低有害成分的含量，发酵工艺被广泛应用于烟叶的加工过程中[2]。烟叶发酵实质上是指在一定温度和湿度条件下，促使烟叶理化特性发生变化并改善其香气和吸味品质的加工过程，微生物在此过程中发挥着重要作用[3]。传统烟叶发酵依赖自然环境中微生

✉ actamicro@im.ac.cn, ☏ 010-64807516

物的自发作用，通过一系列生化反应分解蛋白质、糖类和生物碱[4]，调节烟叶的香气、刺激性和吸味品质。然而，这种自然发酵方式存在周期长、可控性差、发酵效果不稳定等问题[5]，限制了其在工业化中的进一步发展。

近年来，随着微生物技术的发展，越来越多的研究开始关注通过人工接种功能性微生物来调控烟叶发酵过程[6]。李宁等[7]将蜡样芽孢杆菌添加到雪茄烟叶表面进行人工发酵，发现烟叶含氮化合物含量显著降低，烟叶刺激性和劲头明显改善，香气量增加。黄申等[8]将嗜麦芽窄食单胞菌制成菌剂后加入烟叶中进行发酵，发酵后烟叶香气质有所提升。谢和等[9]研究表明，将芽孢杆菌接种到烤烟烟叶上可明显增强烟叶香气并改善烟叶品质。郑小嘎等[10]将分离自烟叶的真菌菌株分别接种到初烤后烟叶和大田生长的烤烟上，结果表明处理后的烟叶主要化学成分含量发生了改变，其品质得到改善，香气质提高、香气量显著增加，刺激性减小，余味舒适。汉逊德巴利酵母(*Debaryomyces hansenii*)是一种耐盐、耐酸、耐低温的非酿酒酵母，已广泛应用于奶酪、干发酵肉制品及果酒等食品发酵体系[11-12]。研究表明，该菌可通过氨基酸分解、脂肪酶与酯酶作用及 Ehrlich 途径生成醇、酯、醛、酮等挥发性香气物质，赋予产品果香、花香和发酵香，并对风味成熟具有重要作用[13]。此外，*D. hansenii* 具有较强的渗透压适应能力和复杂底物代谢能力，可在高盐或低水分环境下维持活性并调控微生物群落结构[14]。上述研究表明，人工添加特定微生物不仅有助于调节烟叶的主要化学成分，还能有效增强香气风格、降低刺激性，从而全面提升烟叶的感官品质和工业适用性。这种“定向发酵”策略为传统烟叶自然发酵方式提供了有益补充，也为构建高效、可控的发酵体系奠定了基础，并显示出良好的应用前景。当前相关研究仍存在以下不足：(1)大多数研究集中于从烟叶或烟草加工环境中分离微生物，忽略了其他自然环境中潜在的优质菌种资源；(2)外源微生物介入后对烟叶表面原有微生物群落结构的影响缺乏系统研究；(3)现有工作多聚焦于发酵产物终点的理化指标变化，缺少对微生物相互作用与功能机制的深入探讨。

本研究从巨峰葡萄表面分离获得一株具有潜在产香能力的酵母菌株，并将其培养发酵后收集、重悬制得的菌悬液用于处理烟叶。通过对处理前后烟叶的关键理化指标(总氮、总植物碱、还原糖、总糖等)进行检测，初步探讨该酵母对烟叶品质的影响。同时，本研究还关注该菌株处理对烟叶表面微生物群落结构的调控作用。本研究以期拓展功能性微生物的筛选来源，为提升烟叶发酵的可控性和产品一致性提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料

烟草品种‘云烟 87’，等级 B2BH1，由贵州中烟工业有限责任公司技术中心提供；巨峰葡萄购自花溪市场。

1.1.2 培养基

YPD 固体培养基(g/L)：蛋白胨 20.0，酵母浸粉 10.0，葡萄糖 20.0，琼脂粉 20.0，自然 pH，1×10^5 Pa 灭菌 30 min。

1.2 产香酵母的分离和筛选

在无菌条件下，取 1 g 葡萄果皮样品加入 99 mL 无菌液体 YPD 培养基中，于 30 ℃、180 r/min 振荡培养 48 h，取出静置，将富集液进行梯度稀释至 10^{-5}。分别选取稀释度为 10^{-3}、10^{-4}、10^{-5} 的稀释液均匀涂布至固体 YPD 和 LB 培养基上。YPD 培养基在 25 ℃恒温箱内培养 2−3 d 至长出单菌落，采用平板划线法纯化菌株，编号保存。

将保藏菌株接种于液体 YPD 培养基中进行振荡培养，在培养期间持续观察并记录发酵液香气的变化；通过嗅辨分析筛选出能够产生令

人愉悦香气的菌株培养液，随后取出并进行标记、编号保存。方法简述如下：按 1:10 的体积比将保存菌株接入液体发酵培养基中，于 30 ℃、180 r/min 振荡培养 1−2 d，制得发酵液。同时，按相同比例将无菌水加入液体发酵培养基，作为空白对照组，并设置 3 个平行重复。根据感官嗅辨结果，筛选出发酵液香味与对照组明显不同的产香菌株并进行标记。对筛选得到的最优菌株重复上述步骤制备发酵液，同时设置空白对照组，随后进行菌株鉴定。

1.3 产香酵母的鉴定

1.3.1 形态学鉴定

将筛选得到的菌株接种 YPD 固体培养基进行菌落形态观察：从菌落颜色、质地、表面形态和边缘特征等方面进行描述，对酵母菌进行初步形态学分类。细胞显微形态观察从细胞形状、生殖方式和排列方式(单生、对生或群生) 3 个方面对筛选菌株进行描述。

1.3.2 分子生物学鉴定

用酵母基因组 DNA 提取试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司]提取基因组 DNA，使用引物 ITS1 (5′-TCCGTAGCTGAACCTGCGG-3′)和 ITS4 (5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′)进行 ITS 区扩增。PCR 反应体系(30 μL)：2×Phusion Master Mix 15 μL，上、下游引物(2 μmol/L)各 1.5 μL，DNA 模板(1 ng/μL) 10 μL，ddH_2O 2 μL。PCR 反应程序：98 ℃预变性 1 min；98 ℃ 10 s，50 ℃ 30 s，72 ℃ 5 min，共 30 个循环；72 ℃终延伸 5 min。对 PCR 产物进行测序，将序列信息提交至 NCBI 数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)进行在线比对分析，并下载酵母菌 26S rDNA D1/D2 区序列，与 PT-1 序列一起，利用 MEGA 11 软件构建系统发育树。结合菌落形态、细胞形态和分子鉴定结果，确定物种归属。

1.4 微生物对烟叶的发酵作用

1.4.1 酵母悬液的制备

将供试菌株种子液按 1:10 的体积比接入发酵培养基，于 30 ℃、180 r/min 发酵 2 d 制得发酵液。将发酵液分装于数个 50 mL 离心管中，6 000 r/min 离心 5 min，弃上清液，保留湿菌体。用无菌水将菌体重悬并用血球计数板调整其浓度为 1×10^8 CFU/mL，制得酵母悬液。

1.4.2 烟叶前处理及接种

在接种酵母悬液前准备好蒸锅，待蒸锅上汽后，每 100 g 烟叶作为一组进行熏蒸，时间 3 min。按烟叶质量的 4% 量取酵母悬液，用微量喷瓶均匀喷施于烟叶上，每组设置 3 个重复。对照用等量无菌水代替，其他处理条件保持一致。于 30 ℃、相对湿度(70±2)%下发酵培养 3 d。

1.4.3 DNA 提取及细菌、真菌扩增子测序

取 100 g 烟叶，用液氮研磨。称取 10 g 磨碎后的烟叶，按照 FastDNA® SPIN Kit for Soil 说明书提取烟叶微生物总 DNA。DNA 浓度和质量由 NanoDrop 2000 紫外-可见分光光度计(ThermoFisher Scientific 公司)和 1% 琼脂糖凝胶电泳测定。使用引物 ITS1F (5′-CTTGGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3′)和 ITS2R (5′-GCTGCGTTTCTCTCGATCGATGC-3′)扩增真菌 ITS1 区域。利用引物 338F (5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3′)和 806R (5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′)扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3−V4 可变区。细菌 16S rRNA 基因 V3−V4 区 PCR 扩增参照 Nie 等[15]建立的方法，PCR 反应体系(30 μL)：2×Phusion Master Mix 15 μL，上、下游引物(2 μmol/L)各 1.5 μL，DNA 模板(1 ng/μL) 10 μL，ddH_2O 2 μL。PCR 扩增程序：98 ℃预变性 1 min；98 ℃变性 10 s，50 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 40 s，共 30 个循环；72 ℃终延伸 5 min。真菌 ITS1 区 PCR 扩增采用相同 2×Phusion Master Mix 反应组分，引物更换为 ITS1F 和 ITS2R，PCR 扩增程序：98 ℃预变性 1 min；98 ℃变性 10 s，56 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 40 s，共 30 个循环；72 ℃终延伸 5 min。PCR 扩增产物采用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(Axygen Biosciences 公司)纯化，

QuantiFluor™-ST (Promega 公司)进行定量。纯化定量后的扩增产物送至广东美格基因科技有限公司，在 Illumina MiSeq 平台开展双端高通量测序。

1.5 烟叶常规化学成分测定

水溶性总糖及还原糖参照 YC/T 159—2019 进行测定[16]，总植物碱参照 YC/T 160—2002 进行测定[17]，总氮参照 YC/T 161—2002 进行测定[18]。

1.6 感官评价

将烟叶切丝制成卷烟，送至贵州中烟工业有限责任公司，由评吸专家按照规范进行感官质量评价。评价标准参照 YC/T 138—1998《烟草及烟草制品 感官评价方法》[19]。

1.7 生物信息学分析

通过 USEARCH 和 VSEARCH 对原始序列进行处理和分析，并按照 USEARCH (https://drive5.com/usearch/)工作流程完成后续操作。基于 97%的序列相似性，将高质量细菌序列(去除条形码和引物序列后，截取 PCR 引物后的 350 个碱基用于分析)聚类为操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)。使用 VSEARCH 对嵌合体进行筛查，并使用 RDP 分类器(RDP classifier)对细菌和真菌序列进行分类注释。

1.8 统计分析

Shannon 指数、ACE 指数和 Observed Richness 用来评估细菌和真菌的 α 多样性，并使用方差分析(analysis of variance, ANOVA)检验统计显著性。使用 vegan 包中的约束主坐标分析(constrained principal coordinates analysis, cPCoA)进行群落 β 多样性分析。采用 WGCNA 包，基于 Spearman 相关性构建 6 个样本中细菌和真菌的共现网络。在分析中排除了在烟叶样本中相对丰度低于 0.1% 的分类单元。使用 Gephi (v0.10.1)进行可视化。计算了所有构建网络的拓扑参数，包括平均度(每个节点的平均连接数)、平均路径长度(从一个节点到另一个节点所需的平均步数)、网络直径(任意 2 个节点间最短路径的最大值)、聚类系数(指示节点邻居形成聚类的趋势)和中心化指标(衡量某些关键节点是否比其他节点具有更多连接)。

2 结果与分析

2.1 菌株分离筛选结果

本研究从市售葡萄果皮表面共分离得到 3 株酵母菌及 4 株细菌。通过嗅辨评定，将各菌株发酵液与空白对照组进行比较，仅菌株 PT-1 发酵液具有浓郁的果香味，并略带酒香气息。

2.2 产香菌株鉴定与群落分析结果

2.2.1 形态学与分子生物学鉴定

不同种类的微生物具有不同的菌落和细胞形态，是区分不同微生物的重要依据。在 YPD 培养基上生长 2 d 后，PT-1 的菌落形态特征和显微形态特征分别如图 1A、1B 所示。由图 1A 可知，产香菌株 PT-1 在 YPD 培养基上的菌落呈白色，中部凸起、表面褶皱、黏稠、无光泽、干燥、不透明、边缘不规则；其质地均匀，容易挑起；培养平板带有明显果香味。由图 1B 可知，显微镜观察发现，PT-1 菌株细胞形态呈圆形或卵圆形，通过多极出芽进行无性繁殖，多数细胞可见单个芽体。

分子生物学鉴定分析如图 1C 所示，菌株 PT-1 与 NCBI 数据库中的汉逊德巴利酵母(*Debaryomyces hansenii*)序列相似性为 99%，以芽生葡萄孢酵母(*Blastobotrys* sp) JQ_026375.1 作为外群，将菌株 PT-1 与其他近缘物种序列共同构建系统发育树，菌株 PT-1 与 *D. hansenii* 聚为同一分支，自展支持率达到 100%。结合形态学特征可确定从葡萄中分离到的菌株 PT-1 为汉逊德巴利酵母(*Debaryomyces hansenii*)。

2.2.2 微生物群落组成分析

酵母菌 PT-1 处理后烟叶表面细菌群落相对丰度的变化如图 2 所示。从门水平来看，处理前后的烟叶表面优势菌基本一致，主要为

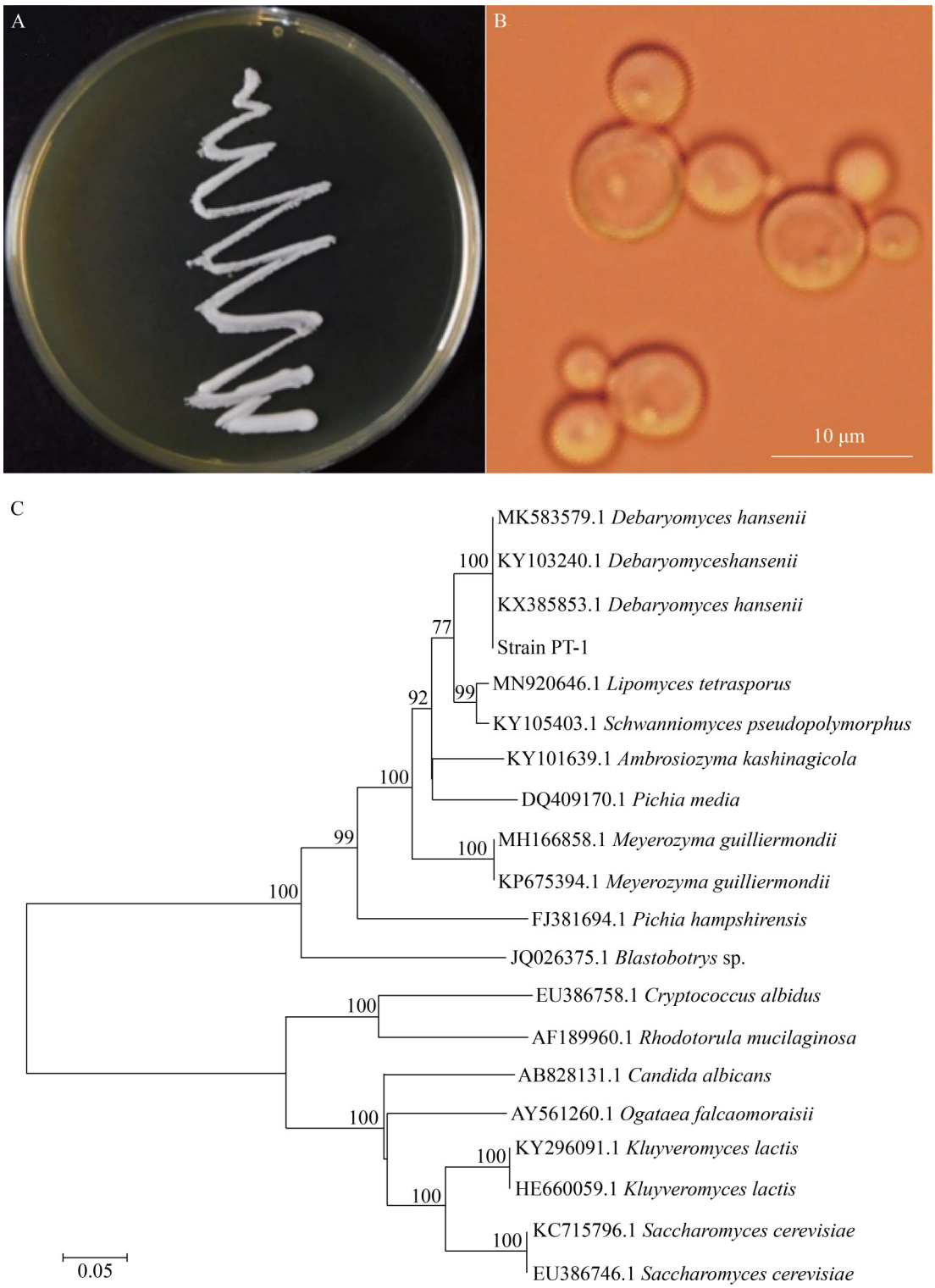


图1　YPD平板培养下的菌落形态(A)、显微镜观察下该菌株的细胞形态(B)及系统发育树(C)

Figure 1　Colony morphology under YPD plate culture (A), cell morphology of the strain under microscopic observation (B), and phylogenetic tree (C).

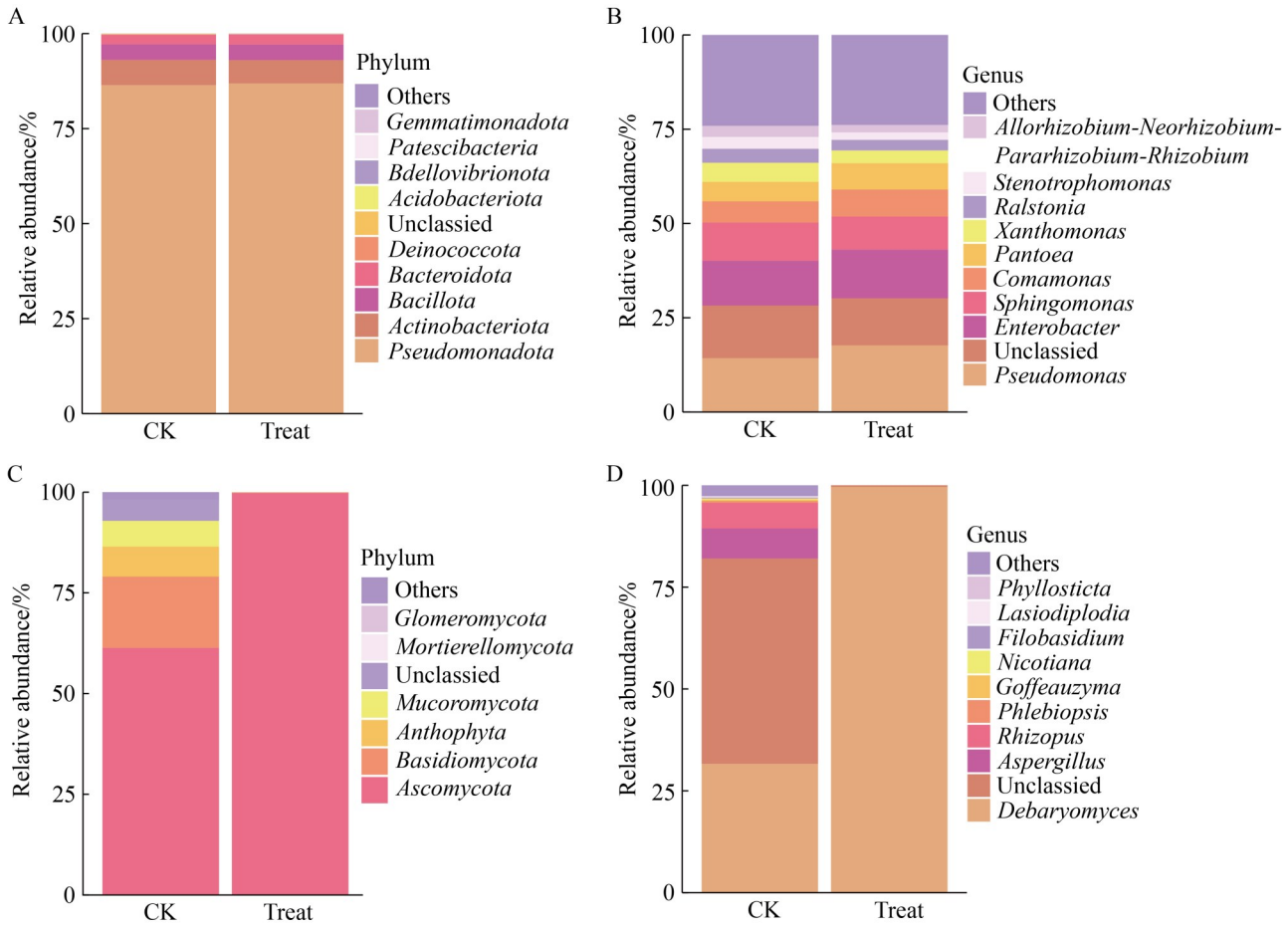


图2 酵母菌PT-1处理烟叶后微生物群落组成

Figure 2 Microbial community composition of tobacco leaves treated with yeast PT-1. A: The 10 most abundant bacterial phyla; B: the 10 most abundant bacterial genera; C: the 10 most abundant fungal phyla; D: The 10 most abundant fungal genera. CK represents the control group, and Treat represents the treatment group.

假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)。处理前后烟叶表面细菌群落均以假单胞菌门(*Pseudomonadota*)为主，其相对丰度分别为86.45%和86.51%；其次为放线菌门(*Actinobacteriota*)，其相对丰度分别为7.01%和6.65%。上述结果表明，发酵前后烟叶表面优势细菌在门水平上基本一致(图2A)。从属水平(图2B)来看，处理前后的烟叶表面优势细菌属为假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和泛菌属(*Pantoea*)等，其中，假单胞菌属(*Pseudomonas*)在CK中的相对丰度达13.66%，处理组PT-1达15.96%；肠杆菌属(*Enterobacter*)在CK中相对丰度达11.71%，处理组达14.11%；鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)在CK中达10.24%，处理组达9.43%。处理后各优势细菌属的相对丰度虽有升降，但变化幅度较小，表明酵母菌处理后烟叶表面优势细菌属整体变化较小。

烟叶表面真菌群落相对丰度的变化如图2所示。从门水平来看，处理前后的烟叶表面真菌群落组成具有明显差异，对照组中主要以子囊菌门(*Ascomycota*)为主，相对丰度达78.15%；

其次是担子菌门(*Basidiomycota*)，相对丰度达12.68%；毛霉菌亚门(*Mucoromycota*)相对丰度达4.25%。处理组以子囊菌门(*Ascomycota*)为主，相对丰度达99.86% (图2C)。同样，从属水平来看，处理前后的群落组成也具有明显差异，与门水平结果一致。CK主要以德巴利酵母属(*Debaryomyces*)为主，相对丰度达58.11%；其次是曲霉属(*Aspergillus*)，相对丰度达4.35%；根霉属(*Rhizopus*)，占比达4.18%。处理组主要以德巴利酵母属(*Debaryomyces*)为主，其相对丰度达99.66% (图2D)。在添加酵母菌处理后，烟叶表面的真菌群落组成发生明显变化，接种的德巴利酵母属在烟叶表面成为绝对优势菌属。

2.3 微生物群落多样性

为评估产香酵母处理对烟叶表面微生物多样性的影响，计算了各样本的Shannon指数，并绘制箱线图进行组间比较(图3)。在细菌群落中(图3A)，对照组(CK)与处理组(Treat)的Shannon指数差异不显著，组间均值接近，组内变异度也较小，统计结果显示两组间无显著差异(P>0.05)。这表明产香酵母的处理在短时间内对细菌群落的α多样性未造成显著改变。然而，在真菌群落中(图3B)，两组之间的Shannon指数存在显著差异。处理组的多样性指数显著低于对照组(P<0.05)，且处理组呈现极低的Shannon值。这说明外源酵母菌在烟叶表面快速占据优势地位，可能对原有真菌群落产生竞争排斥作用，显著降低真菌多样性。

2.4 差异物种分析

为进一步探索经酵母菌PT-1处理后的烟叶表面微生物群落组成差异，本研究在OTU水平进行Venn分析。结果表明，对照组烟叶(CK)表面特有203个OTU，处理组(Treat)特有179个OTU，两组共有634个OTU (图4A)。处理前后对比，烟叶表面细菌多样性无显著变化，这与烟叶表面细菌群落α多样性分析的结果一致。由图4B可知，对照组特有51个真菌OTU，处理组特有25个，两组共有97个OTU。

2.5 微生物β多样性分析

为探究接种产香酵母菌株后烟叶表面微生物群落结构的变化情况，本研究基于Bray-Curtis距离矩阵，采用vegan包进行约束主坐标分析(cPCoA/capscale)对细菌和真菌群落进行可视化分析，以处理组别(CK与Treat)作为约束变

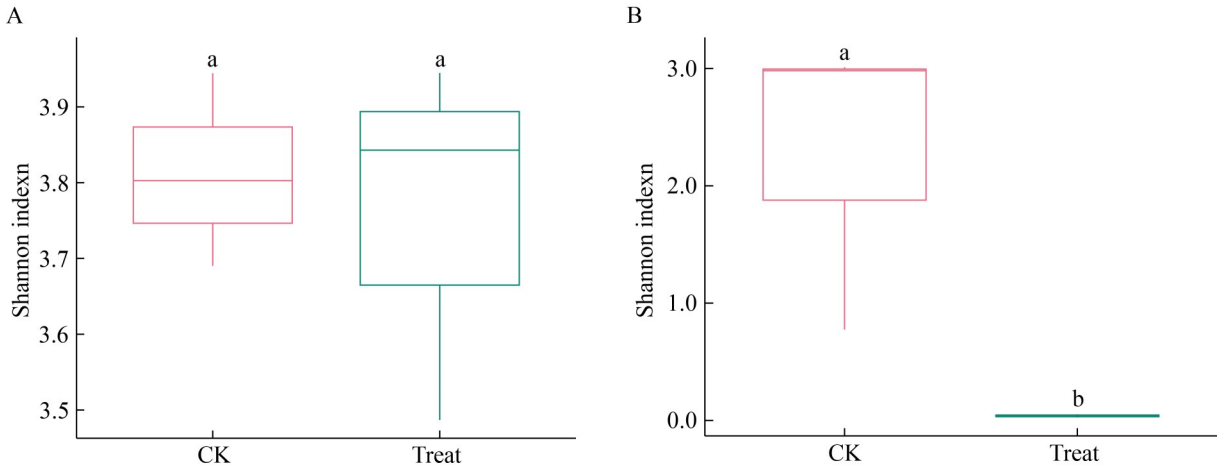


图3 酵母菌处理后烟叶表面微生物群落物种多样性

Figure 3 Microbial community species diversity on tobacco leaves after yeast treatment. A: Bacterial Shannon index; B: Fungal Shannon index. Error bars represent standard deviation. Different lowercase letters indicate significant differences between groups (P<0.05).

量。组间群落结构差异采用置换方差分析(PERMANOVA)检验，置换次数为 999 次。如图 5 所示，cPCoA 结果显示对照组(CK)与处理组(Treat)在细菌和真菌 2 个群落层面均表现出明显分离，表明酵母处理对微生物群落结构产生了明显影响。在细菌群落结构的 cPCoA 图(图 5A)中，前 2 个主坐标 PCo1 和 PCo2 的贡献率分别为 52.2% 和 24.4%，累计解释了 76.6% 的样本间差异。处理组样本在 PCo1 轴上与对照组分布明显不同，且组内聚集性较好，表明外源酵母的干预明显改变了烟叶表面细菌群落组成。真菌群落的 cPCoA 图(图 5B)中，PCo1 贡献率高达 78.9%，PCo2 为 15.8%，二者合计解释了 94.7% 的变异，说明前 2 个主坐标能够较好地解释群落差异。处理组与对照组在 PCo1 轴上出现明显分离，且组内样本之间距离较近，进一步表明酵母处理后真菌群落结构发生明显变化，且组内一致性较高。

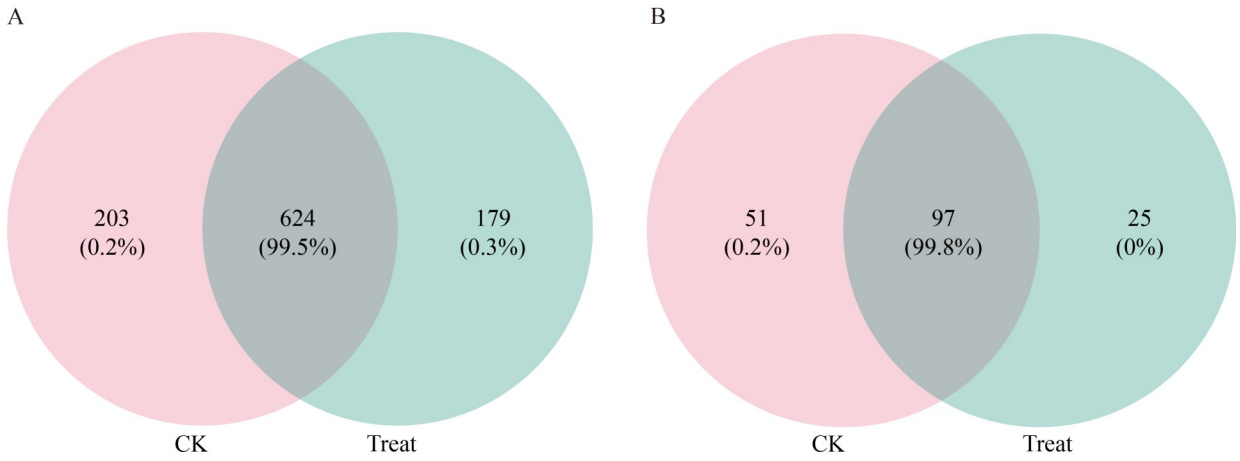


图4 酵母菌处理后烟叶表面微生物群落OTU差异分析

Figure 4 Venn analysis of microbial community OTUs on tobacco leaves after yeast treatment. A: Bacterial OTU differences; B: Fungal OTU differences.

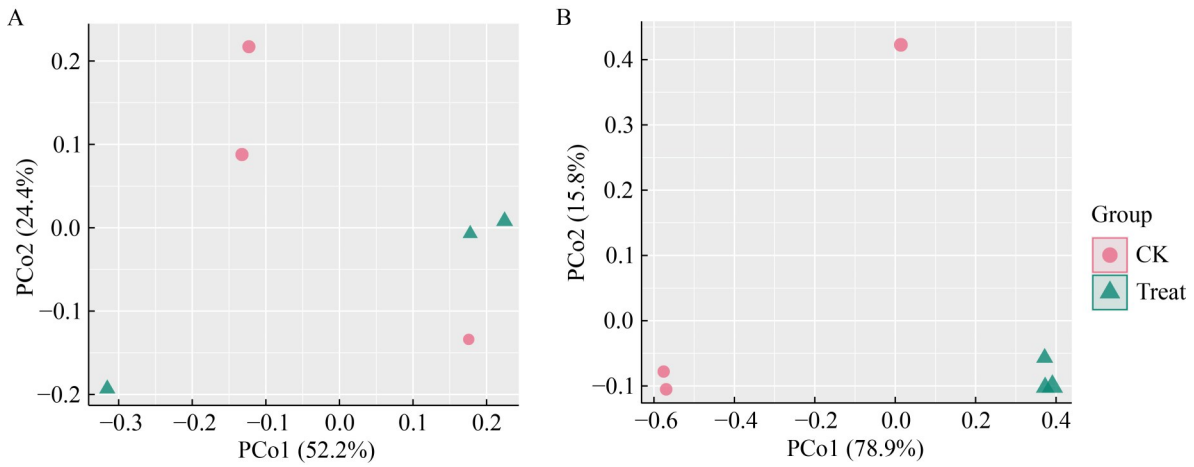


图5 酵母菌处理后烟叶表面微生物群落β多样性

Figure 5 Beta diversity of microbial communities on tobacco leaf surfaces after yeast treatment. A: Bacteria; B: Fungi.

2.6 共现网络分析

为进一步探讨酵母处理对烟叶表面微生物群落内部相互作用关系的影响，本研究构建了细菌和真菌群落的共现网络图(图 6)。节点代表微生物分类单元，边表示分类单元间的相关关系，不同颜色表示节点所属的门类，节点大小反映其在网络中的相对重要性。

细菌网络图(图 6A)显示，群落内部具有较为复杂的互作关系，多个门类如假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)等共同构成了较大的网络模块。其中假单胞菌门(*Pseudomonadota*)占据主导地位，连接边数较多，且在多个子模块中居于核心位置，表明其在网络中具有较高连接度。此外，芽孢杆菌门(*Bacillota*)和放线菌门(*Actinobacteriota*)也表现出较强的连接性，表明其与其他类群之间存在较多关联。相比之下，真菌共现网络(图 6B)结构明显更为简单。主要由子囊菌门(*Ascomycota*)构成的中心节点主导网络，其余门类如毛霉门(*Mucoromycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)及植物来源的被子植物门(*Anthophyta*)序列分布于外围，连接数量较少，整体网络松散。结合 Shannon 指数和网络结构分析，真菌群落多样性较低，网络连接也较少，表明子囊菌门(*Ascomycota*)节点在真菌网络中占据优势地位。

2.7 产香酵母对复烤烟叶化学成分及感官品质的影响

为评价产香酵母处理对复烤烟叶品质的影响，检测了烟叶发酵前后主要理化指标的变化，并进行了感官品质评价(表 1、表 2)。

在化学成分方面(表 1)，处理组(PT-1)烟叶的总糖和还原糖含量略高于对照组(CK)，其中总糖含量由 18.27% 提高至 19.12%，显著增加了

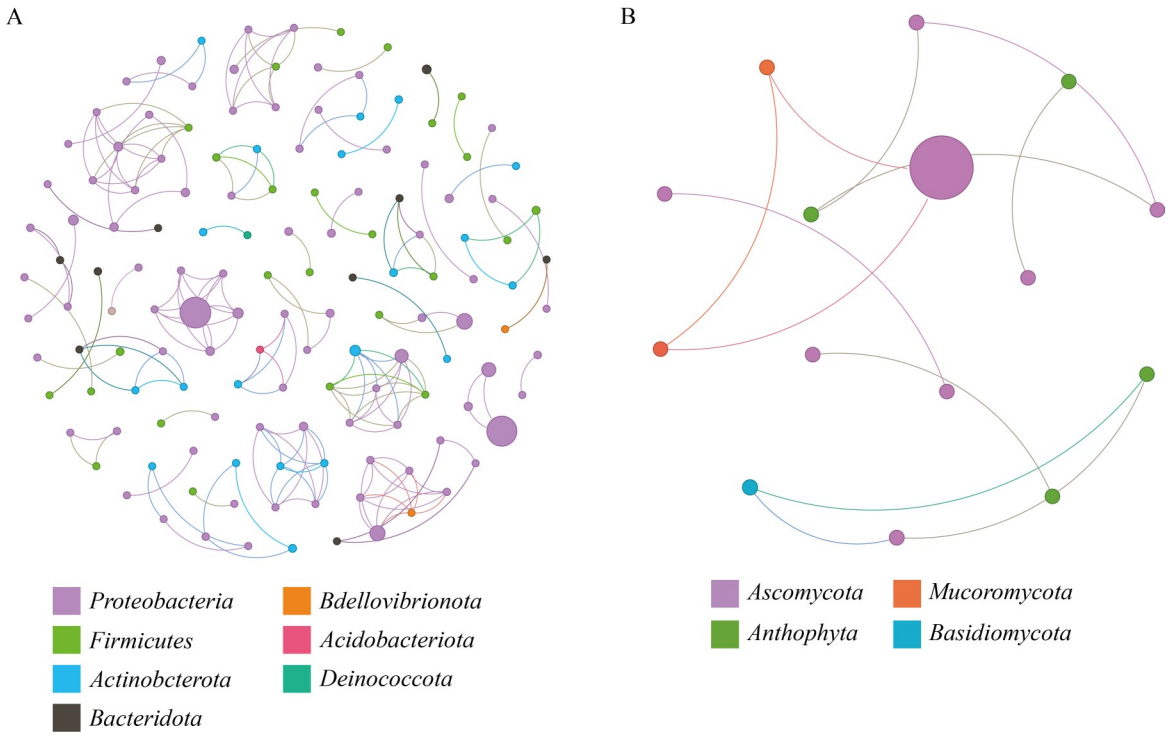


图6 酵母菌处理后烟叶表面微生物群落共现网络

Figure 6 Co-occurrence network of microbial communities on tobacco leaf surfaces after yeast treatment. A: Bacteria; B: Fungi.

表1 烤烟发酵前后的化学成分变化

Table 1 Changes in chemical components of flue-cured tobacco before and after fermentation

Sample name	Total sugar	Reducing sugar	Total alkaloids	Chloride	Total nitrogen	Potassium	Total sugar/ total alkaloids	Total nitrogen/ total alkaloids	Potassium/ chloride
CK	18.27±0.69b	15.27±0.90a	3.83±0.07a	0.31±0.02a	2.44±0.05a	1.88±0.06a	4.78±0.24a	0.64±0.00a	6.13±0.43a
PT-1	19.12±1.35a	15.73±1.22a	3.76±0.14a	0.30±0.02a	2.39±0.07a	1.83±0.08a	5.09±0.48a	0.64±0.02a	6.06±0.43a

Numbers in the table represent mean±SD. Different letters following the data in the same column indicate statistically significant differences (P<0.05).

表2 烤烟发酵前后的感官评价

Table 2 Sensory evaluation of flue-cured tobacco before and after fermentation

Sample name	Aroma concentration	Strength	Aroma quality	Aroma quantity	Off-notes	Irritancy	Aftertaste	Sweetness	Total score
CK	6.50±0.00a	6.50±0.00a	6.00±0.00a	5.93±0.12a	5.50±0.00b	5.50±0.00b	5.33±0.29b	5.50±0.00a	33.93±0.12b
PT-1	6.50±0.00a	6.37±0.12a	6.30±0.00a	6.00±0.00a	6.00±0.00a	6.00±0.00a	5.87±0.12a	5.80±0.00a	36.03±0.12a

Numbers in the table represent mean±SD. Different letters following the data in the same column indicate statistically significant differences (P≤0.05).

0.85% (P<0.05)。还原糖增加了 0.46%，还原糖略升高但差异不显著，说明酵母在发酵过程中可能促进糖类的积累或转化，有利于烟叶香气前体的形成。总植物碱、氯离子、总氮和钾离子等指标在两组间差异不大，说明该处理并未破坏烟叶的基本化学平衡。糖碱比和氮碱比的稳定性进一步表明酵母发酵过程中未引起糖、氮与总植物碱之间比例关系的明显波动，有助于维持烟叶的吸味协调性。

在感官品质方面(表 2)，处理组在多个评价指标上优于对照组。具体来看，香气质和香气量分别由 6.00 和 5.93 提升至 6.30 和 6.00，表明发酵有助于提升香气表现；刺激性和杂气评分显著提高(P<0.05)，表明酵母处理有助于降低烟叶的刺激性和不良气味；余味和甜感方面也有小幅提升。最终总评分由 33.93 升至 36.03，提升显著(P<0.05)，反映出发酵处理在整体感官层面的改善效果。

综上所述，产香酵母的接种不仅未对烟叶主要化学成分造成不良影响，反而通过调节糖分积累和改善刺激性等感官指标，显著提升了烟叶的香气质量与吸味体验，为应用功能微生物改良烟叶品质提供了有力支持。

2.8 真菌群落与感官及化学指标的相关性分析

为深入探讨烟叶表面真菌群落在发酵过程中对感官品质与理化成分的潜在作用，本研究基于 Spearman 相关性分析绘制了真菌属水平与主要感官指标(图 7A)及化学成分(图 7B)之间的相关性热图。

在感官指标相关性热图(图 7A)中，不同真菌属与香气、刺激性、甜感等特征呈现不同的相关趋势。其中，*Debaryomyces* 属与甜感、杂气、香气质和刺激性呈正相关，与劲头呈负相关，提示其可能与甜感和香气质提升以及杂气和刺激性改善相关。相比之下，*Phyllosticta*、*Thermomyces* 等真菌与香气质、甜感、杂气和刺激性总体呈负相关，提示其与上述感官指标的变化趋势与 *Debaryomyces* 不同。

在理化指标相关性热图(图 7B)中，不同真

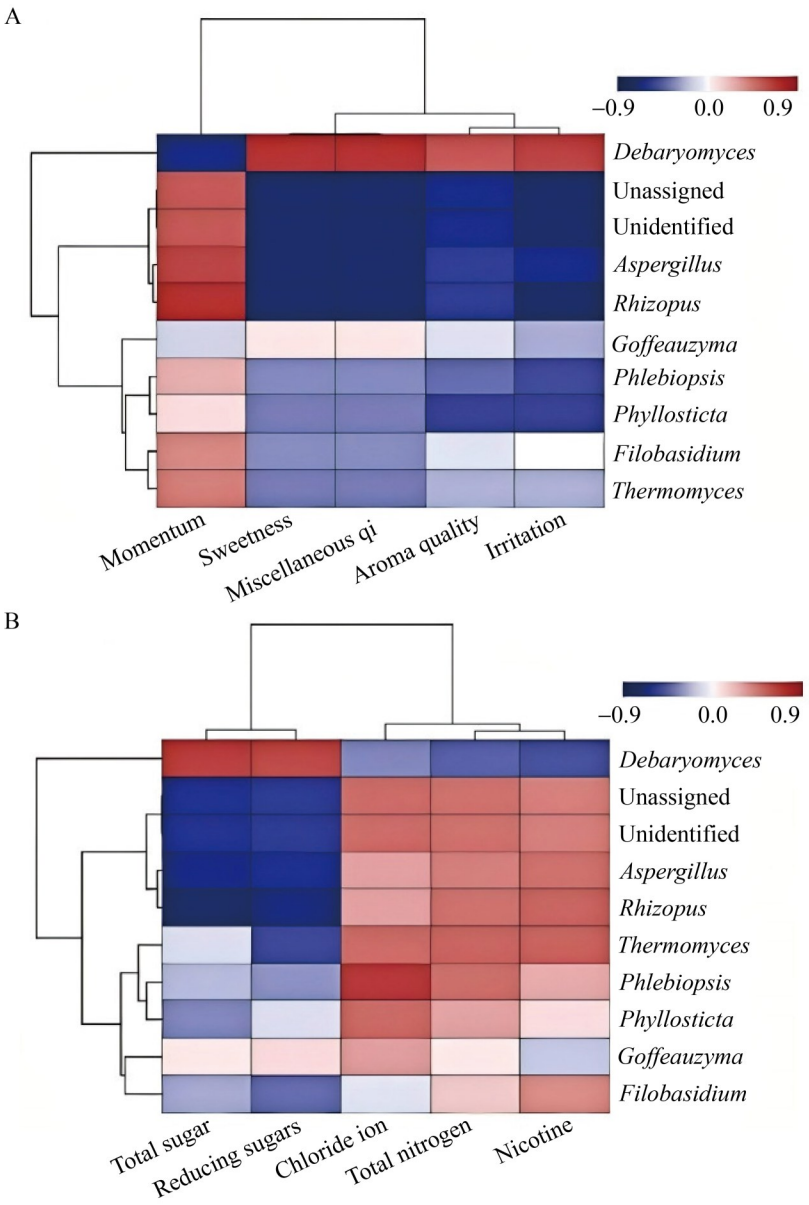


图7　复烤烟叶真菌群落与感官指标及化学成分的相关性分析

Figure 7　Correlations between fungal communities and sensory attributes and chemical composition of redried tobacco leaves. A: Correlations between fungal communities and sensory attributes; B: Correlations between fungal communities and chemical composition.

菌属与各理化指标呈现不同的相关趋势。*Debaryomyces* 属与总糖和还原糖呈正相关，与氯离子、总氮和总植物碱呈负相关。相反，*Aspergillus*、*Rhizopus*、*Thermomyces*、*Phlebiopsis* 和 *Phyllosticta* 等与糖类指标总体呈负相关，而与氯离子和总氮总体呈正相关，提示不同真菌属可能具有不同的生态关联。

3　讨论

烟叶主要化学指标包括还原糖、总糖、总

氮、总植物碱等，其含量与烟叶的内在质量密切相关[20]。研究表明，烟叶中糖类物质在燃吸过程中可在一定程度上调和烟气，使烟气风味更加醇和，糖类物质含量过高会破坏烟气的协调与平衡，使得烟气平淡无味[21]；含氮化合物含量过高，卷烟燃烧时会产生挥发性碱性物质，使烟气的碱性和刺激性增加，进而影响其品质[22]；烟碱含量过高会影响卷烟的烟气特征和安全性，适量的烟碱可以给吸食者带来更好的体验感[23]。酵母菌处理后烟叶总植物碱和总氮含量降低(表 1)，与覃明娟等[24]研究结果相似。感官评定也是判断烤烟醇化效果的重要指标之一，是烟叶质量评价的主要手段和重要依据[25]。复烤烟叶化学成分及感官评价结果表明(表 2)，经 PT-1 酵母悬液发酵处理的烟叶总糖及还原糖含量有一定程度的提高，总植物碱和总氮含量也有小幅度的下降。感官评价结果表明，相较于对照组，经产香酵母发酵处理的烤烟香气质、甜感和余味等优良指标更突出，这可能是由于加入的酵母菌产生的酶将烟叶表面的淀粉和蛋白质分解为小分子葡萄糖和氨基酸，这些物质在一定条件下可发生美拉德反应[26]并产生致香物质；微生物种类众多，产生的香气也多种多样。杜飞等[27]从茅台酒酒糟和茯砖茶中分离出的酿酒酵母和冠突散囊菌，可以产生茶香、酒香、蜜甜香及特殊的香味，以 2 种菌株的发酵液处理烟叶可有效提高其感官品质。郭林青等[28]从水果表面筛选到的汉逊酵母菌株可利用烟末发酵产生花香和甜香物质。朱克永[29]从猕猴桃表皮分离得到酵母菌株，其发酵液具有优雅的水果香气和猕猴桃自然果香。这说明在烟叶发酵过程中添加外源微生物并利用其产香特性可显著改善烟叶香气及其品质。

本研究从 α 多样性和 β 多样性 2 个维度系统分析了产香酵母处理对烟叶表面微生物群落结构的影响。α 多样性反映群落的物种丰富度与均匀度，结果显示，细菌群落的 Shannon 指数在处理组与对照组之间差异不显著(图 3)，说明外源酵母接种在短期内未显著改变细菌物种的整体丰富度与均匀性。真菌群落的 Shannon 指数在处理组显著下降(P<0.05)，提示接种的酵母菌株(*Debaryomyces hansenii*) PT-1 在烟叶表面具有较强的定殖能力，可能通过资源竞争或代谢抑制作用抑制了原有真菌类群的生长，导致真菌多样性显著降低[30]。先前一项对烟叶霉变的研究发现，霉变烟叶中的真菌种类数和多样性显著低于健康叶片，*Xeromyces*、*Aspergillus* 等少数真菌迅速扩张，导致群落单一化和网络连接性下降[31]。

在 β 多样性分析中(图 5)，cPCoA 结果显示，不论是细菌还是真菌，处理组与对照组在主坐标轴上均表现出明显分离，表明酵母处理明显改变了烟叶表面的微生物群落结构。细菌群落的 PCo1 解释率为 52.2%，而真菌群落高达 78.9%，说明前 2 个主坐标对真菌群落差异的解释率高于对细菌群落差异的解释率。这种群落组成的改变不仅体现为种类上的替代，还可能伴随生态功能变化，从而影响烟叶香气形成和发酵品质[32-33]。综合来看，产香酵母 PT-1 的接种在未显著改变细菌 α 多样性的基础上，明显改变了真菌群落结构，显示出一定的微生态调控潜力。该发现对理解微生物干预在烟叶发酵中的作用机制具有重要意义，也为功能菌种的开发提供了参考。

为了进一步探究酵母悬液改善烤烟烟叶品质的作用机制，本研究分析了处理前后的烟叶表面细菌和真菌的多样性。细菌群落分析结果表明，相较于对照组，处理组的细菌 α 多样性变化较小(图 3)，但 β 多样性分析显示群落组成仍发生变化(图 5)，说明酵母悬液对细菌 α 多样性影响较小，但可能改变其群落结构。真菌群落结构分析结果表明，处理前后在门水平上均以子囊菌门(*Ascomycota*)为优势真菌门，其中处理组子囊菌门(*Ascomycota*)相对丰度达 99.86%；在属水平上处理组主要以德巴利酵母属(*Debaryomyces*)为主，其相对丰度达 99.66%

(图 2C、2D)，表明酵母处理可影响复烤烟叶真菌群落的多样性和丰富度，这与蓝黄博恩[34]关于酵母处理后番茄真菌多样性增加的研究结果不一致，但丰富度降低与其研究结果一致。

本研究通过 Spearman 相关性分析发现，多个真菌属与烟叶感官和理化指标存在不同程度的相关关系(图 7)。其中，*Debaryomyces* 与香气质、甜感、杂气、刺激性、总糖、还原糖等评分或指标呈正相关，与劲头、总氮、总植物碱等呈负相关，提示其可能与烟叶品质改善相关。其他真菌属与上述指标呈现不同甚至相反的相关趋势。已有研究表明，微生物的产酶和代谢活动可能影响烟叶香气形成[35-37]，群落结构与功能之间的关系具有复杂性[38]。因此，相关性结果仅能提供潜在线索，仍需通过功能实验验证不同真菌类群的具体作用。

因此，在功能菌筛选与发酵工艺优化过程中应综合考虑微生物群落结构变化及其与品质指标的功能性关联，优选具备明确代谢功能且与优良品质指标呈正相关的真菌类群，以实现对烟叶发酵过程的精准调控。本研究的相关性分析为揭示微生物影响烟叶品质的生态机制提供了线索，并为构建以功能微生物为核心的发酵体系奠定了基础。本研究属于功能菌剂在烟叶醇化阶段应用潜力的初步评价，得到的结果不能外推为长期陈化的最终效果，后续仍需通过更长周期试验验证该菌株在实际醇化过程中的持续作用和稳定性。

4 结论

本研究从巨峰葡萄表面分离获得了一株具有显著产香能力的酵母菌株 PT-1。通过 rDNA-ITS 序列分析进行分子鉴定，结果表明该菌株属于 *Debaryomyces hansenii*。该菌株发酵液表现出明显的果香和轻微酒香。在实际应用中，按烟叶质量 4% 的添加量将 PT-1 菌悬液均匀喷施于复烤烟叶表面，并在适宜条件下进行短期发酵处理。PT-1 接种后，烟叶表面细菌多样性整体保持相对稳定，真菌多样性显著下降，群落结构明显简化；德巴利酵母属在处理组中占据绝对优势，提示该菌株能够在烟叶表面占据优势并影响群落结构；外源酵母处理在未显著改变细菌 α 多样性的同时，主要影响了真菌群落结构，这可能与烟叶品质改善相关。感官评吸结果表明，处理后的卷烟样品在香气质、余味和甜感等方面有所改善，整体评分显著提高，表明 PT-1 菌株具备良好的风味调控潜力。此外，PT-1 菌株的发酵工艺操作较为简便，显示出进一步开展中试和长期应用验证的潜力；其对发酵周期和终端产品稳定性的影响仍需进一步研究。综上所述，*Debaryomyces hansenii* PT-1 不仅是一株产香酵母菌株，也为构建高效、可控的微生物发酵体系提供了新资源和新思路，具有潜在的应用价值。

作者贡献声明

王显平：数据收集与分析、论文撰写与修改；周家喜：样本收集、论文讨论及提供技术支持；申娟：样本收集和论文讨论；胡晓娟：数据收集；吴有翔：化学检测；王芳：化学检测；杨洋、杨盛刚：常规化学成分分析；刘京：常规化学成分分析；苟剑渝：论文框架设计与审阅；邹晓：论文构思、框架设计和审阅。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

[1] Wang W, Ma WG, Zhao WS, Han TH, Tai XC, Liao DZ. Effect of applying organic fertilizer to tobacco leaves on the quality and taste of cigarettes[J]. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 2023, 17(3): 318-328.

[2] 刘洪坤, 毛文龙, 游敏, 潘高伟, 郭春生, 乔学义, 吴嘉楠, 刘海龙, 韩云龙, 付金存. 改善低次烟叶品质的生物发酵工艺优化[J]. 中国烟草科学, 2024, 45(2): 99-107.
Liu HK, Mao WL, You M, Pan GW, Guo CS, Qiao XY, Wu JN, Liu HL, Han YL, Fu JC. Optimization of biological fermentation for improving the quality of discarded tobacco leaves[J]. Chinese Tobacco Science, 2024, 45(2): 99-107 (in Chinese).

[3] 胡志忠, 姜宇, 龙章德, 刘鸿, 邹克兴, 苏赞, 孙建生, 李季刚, 杨龙彦, 许春平. 利用产香酵母发酵技术改善烟叶品质[J]. 食品与机械, 2018, 34(11): 200-204.
Hu ZZ, Jiang Y, Long ZD, Liu H, Zou KX, Su Z, Sun JS, Li JG, Yang LY, Xu CP. Study on improvement of tobacco quality by fermentation technology with aroma producing yeast[J]. Food and Machinery, 2018, 34(11): 200-204 (in Chinese).

[4] 胡婉蓉, 蔡文, 郑召君, 刘元法, 罗诚, 李东亮. 发酵介质和发酵过程对雪茄烟叶品质的影响[J]. 烟草科技, 2023, 56(2): 41-52.
Hu WR, Cai W, Zheng ZJ, Liu YF, Luo C, Li DL. Effects of fermentation media and processes on cigar tobacco quality[J]. Tobacco Science & Technology, 2023, 56(2): 41-52 (in Chinese).

[5] 杨波, 张喜峰. 不同烘烤工艺对中部烟叶烘烤质量的影响[J]. 陕西农业科学, 2021, 67(11): 86-90.
Yang B, Zhang XF. Effect of different flue-curing processes on tobacco quality of middle leaves[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2021, 67(11): 86-90 (in Chinese).

[6] 虞昕磊, 袁跃斌, 饶熊飞, 陈霓, 潘勇, 刘利平, 李志豪, 周绍桢. 发酵温度对茄芯烟叶化学成分和感官品质的影响[J]. 中南农业科技, 2023, 44(1): 20-23.
Yu XL, Yuan YB, Rao XF, Chen N, Pan Y, Liu LP, Li ZH, Zhou SZ. Effects of fermentation temperature on the chemical composition and sensory quality of cigar filler tobacco leaves[J]. Journal of Central South Agricultural Science and Technology, 2023, 44(1): 20-23 (in Chinese).

[7] 李宁, 汪长国, 曾代龙, 刘一兵, 杨军, 雷金山, 贾玉红, 赵敏, 吴艳, 寇明钰, 刘林, 戴亚, 张燕. 蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)筛选鉴定及在雪茄烟叶发酵中的应用研究[J]. 中国烟草学报, 2012, 18(2): 65-69.
Li N, Wang CG, Zeng DL, Liu YB, Yang J, Lei JS, Jia YH, Zhao M, Wu Y, Kou MY, Liu L, Dai Y, Zhang Y. Isolation and identification of *Bacillus cereus* and its application in cigar leaf fermentation[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2012, 18(2): 65-69 (in Chinese).

[8] 黄申, 周利峰, 吕乔, 孙海峰, 景天, 李石头, 闫茗熠, 毛多斌. 嗜麦芽窄食单胞菌的培养基优化及其在烟叶发酵中的初步应用研究[J]. 轻工学报, 2021, 36(3): 36-44.
Huang S, Zhou LF, LÜ Q, Sun HF, Jing T, Li ST, Yan MY, Mao DB. Optimization of medium for *Stenotrophomonas* sp. and its preliminary application in tobacco fermentation[J]. Journal of Light Industry, 2021, 36(3): 36-44 (in Chinese).

[9] 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(4): 27-30, 34.
Xie H, Han ZL, Zhao WN. Effect of microbial fermentation on internal quality of flue-cured tobacco[J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 1999(4): 27-30, 34 (in Chinese).

[10] 郑小嘎, 张修国, 张天宇, 吴洵耻. 真菌菌剂改善烟叶品质的初步研究[J]. 微生物学通报, 2003, 30(6): 10-13.
Zheng XG, Zhang XG, Zhang TY, Wu XC. Improving tobacco quality by fungal leavens[J]. Microbiology China, 2003, 30(6): 10-13 (in Chinese).

[11] Prista C, Loureirodias M, Montiel V, Ramos J. Mechanisms underlying the halotolerant way of *Debaryomyces hansenii*[J]. FEMS Yeast Research, 2005, 5(8): 693-701.

[12] Cano-García L, Rivera-Jiménez S, Belloch C, Flores M. Generation of aroma compounds in a fermented sausage meat model system by *Debaryomyces hansenii* strains[J]. Food Chemistry, 2014, 151: 364-373.

[13] 胡龙坤, 潘国杨, 姜锦惠, 贺扬, 武俊瑞, 安飞宇, 乌日娜. 产香酵母在发酵食品中的产香机制及应用进展[J]. 食品工业科技, 2026, 47(15): 492-505.
Hu LK, Pan GY, Jiang JH, He Y, Wu JR, An FY, Wu RN. Mechanisms of aroma production by aromatic yeasts in fermented foods and recent advances in their application[J]. Food Industry Science and Technology, 2026, 47(15): 492-505 (in Chinese).

[14] 段文文. 盘县火腿中*Debaryomyces hansenii*的筛选、发酵特性及应用研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2025.
Duan WW. A study on the screening, fermentation characteristics and applications of debaryomyces hansenii in Pan County ham[D]. Guiyang: Guizhou University, 2025 (in Chinese).

[15] Nie S, Li LH, Wu YY, Xiang H, Li CS, Chen SJ, Zhao YQ, Cen JW, Yang SL, Wang YQ. Exploring the roles of microorganisms and metabolites in the fermentation of sea bass (*Lateolabrax* japonicas) based on high-throughput sequencing and untargeted metabolomics[J]. LWT, 2022, 167: 113795.

[16] 全国烟草标准化技术委员会卷烟分技术委员会(SAC/TC 144/SC 1). 烟草及烟草制品 水溶性糖的测定 连续流动法: YC/T 159—2019[S]. 国家烟草专卖局, 2019.
Cigarette Subcommittee of the National Technical Committee on Tobacco Standardization (SAC/TC 144/SC 1). Tobacco and tobacco products—Determination of water-soluble sugars—Continuous flow method: YC/T 159—2019[S]. State Tobacco Monopoly Administration, 2019 (in Chinese).

[17] 全国烟草标准化技术委员会. 烟草及烟草制品 总植物碱的测定 连续流动法: YC/T 160—2002[S]. 国家烟草专卖局, 2002.
National Technical Committee on Tobacco Standardization. Tobacco and tobacco products—Determination of total alkaloids—Continuous flow method: YC/T 160—2002[S]. State Tobacco Monopoly Administration, 2002 (in Chinese).

[18] 全国烟草标准化技术委员会. 烟草及烟草制品 总氮的测定 连续流动法: YC/T 161—2002[S]. 国家烟草专卖局, 2002.
National Technical Committee on Tobacco Standardization. Tobacco and tobacco products—Determination of total nitrogen—Continuous flow method: YC/T 161—2002[S]. State Tobacco Monopoly Administration, 2002 (in Chinese).

[19] 全国烟草标准化技术委员会. 烟草及烟草制品 感官评价方法: YC/T 138—1998[S]. 国家烟草专卖局, 1998.
National Technical Committee on Tobacco Standardization. Tobacco and tobacco products—Method for sensory evaluation: YC/T 138—1998[S]. State Tobacco Monopoly Administration, 1998 (in Chinese).

[20] 王育军, 周冀衡, 李强, 张一扬, 曾敏, 解燕, 毛建书. 曲靖烟叶化学成分可用性及其对感官评吸质量的影响[J].

烟草科技, 2014, 47(11): 67-73.
Wang YJ, Zhou JH, Li Q, Zhang YY, Zeng M, Xie Y, Mao JS. Chemical component usability of Qujing tobacco leaves and its influences on sensory quality[J]. Tobacco Science & Technology, 2014, 47(11): 67-73 (in Chinese).

[21] 于洁, 蔡振波, 高扬, 沙云菲, 岳宝华, 孙翔. 烟叶中糖类物质含量及产地特性[J]. 济南大学学报(自然科学版), 2022, 36(1): 108-114.
Yu J, Cai ZB, Gao Y, Sha YF, Yue BH, Sun X. Contents and origin characteristics of carbohydrates in tobacco leaves[J]. Journal of University of Jinan (Science and Technology), 2022, 36(1): 108-114 (in Chinese).

[22] Zheng TF, Zhang QY, Wu QY, Li DL, Wu XY, Li PH, Zhou QW, Cai W, Zhang J, Du GC. Effects of inoculation with *Acinetobacter* on fermentation of cigar tobacco leaves[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 911791.

[23] 杨月先, 李宗平, 饶雄飞, 付庆灵, 吴哲宽, 李浩. 茄衣晾制过程中烟碱和主要化学成分动态变化及相互关系[J]. 湖南农业科学, 2022(2): 96-100, 105.
Yang YX, Li ZP, Rao XF, Fu QL, Wu ZK, Li H. Dynamic changes and relationship between nicotine and main chemical components during the airing process of cigar wrappers[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2022(2): 96-100, 105 (in Chinese).

[24] 覃明娟, 陈森林, 赵强忠, 彭琛, 金保锋, 陶红. 植物乳杆菌在改善各产区烟叶品质中的应用[J]. 食品与机械, 2020, 36(5): 199-204, 226.
Qin MJ, Chen SL, Zhao QZ, Peng C, Jin BF, Tao H. Application of *Lactobacillus* plantarum in improving the quality of tobacco leaves from different regions[J]. Food & Machinery, 2020, 36(5): 199-204, 226 (in Chinese).

[25] Huang JW, Yang JK, Duan YQ, Gu W, Gong XW, Zhe W, Su C, Zhang KQ. 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.

[26] 甘学文, 王光耀, 邓仕彬, 张春晖, 崔和平, 刘曙光, 于静洋, 成涛, 张晓鸣. 美拉德反应中间体对卷烟评吸品质的影响及其风味受控形成研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(6): 46-52.
Gan XW, Wang GY, Deng SB, Zhang CH, Cui HP, Liu SG, Yu JY, Cheng T, Zhang XM. Effects of Maillard reaction intermediates on smoking quality and study on controlled formation of flavor[J]. Food and Machinery, 2017, 33(6): 46-52 (in Chinese).

[27] 杜飞, 喻阑清, 周家喜, 许绍欢, 黄小贞, 邹晓. 两种产香微生物分离鉴定及其发酵液增香烟草研究[J]. 山地农业生物学报, 2021, 40(1): 14-21.
Du F, Yu LQ, Zhou JX, Xu SH, Huang XZ, Zou X. Isolation and identification of two aroma-producing microorganisms and their fermented liquid to increase the aroma of tobacco[J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2021, 40(1): 14-21 (in Chinese).

[28] 郭林青, 朴永革, 朱春阳, 李河霖, 马丹, 王君婷, 马林. 烟草产香酵母YG-4的筛选鉴定及香气成分分析[J]. 轻工学报, 2019, 34(5): 27-31.
Guo LQ, Piao YG, Zhu CY, Li HL, Ma D, Wang JT, Ma L. Screening and identification of aroma-producing yeast YG-4 and analysis of its aroma components[J]. Journal of Light Industry, 2019(5): 27-31 (in Chinese).

[29] 朱克永. 猕猴桃发酵果酒的酿造和营养成分分析[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(8): 92-95.
Zhu KY. Brewing and nutritional composition analysis of kiwifruit fermented wine[J]. Food Research and Development, 2017, 38(8): 92-95 (in Chinese).

[30] Yang M, Cai YZ, Bai T, Han XN, Zeng R, Liu DM, Liu T, Liu R, Ma C, Yu L. Changes in the community composition and function of the rhizosphere microbiome in tobacco plants with *Fusarium* root rot[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1512694.

[31] Zhou JX, Cheng Y, Yu LF, Zhang J, Zou X. Characteristics of fungal communities and the sources of mold contamination in mildewed tobacco leaves stored under different climatic conditions[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(1): 131-144.

[32] Liu F, Wu ZY, Zhang XP, Xi GL, Zhao Z, Lai M, Zhao MQ. Microbial community and metabolic function analysis of cigar tobacco leaves during fermentation[J]. MicrobiologyOpen, 2021, 10(2): e1171.

[33] Ning Y, Mai J, Hu BB, Lin ZL, Chen Y, Jiang YL, Wei MY, Zhu MJ. Study on the effect of enzymatic treatment of tobacco on HnB cigarettes and microbial succession during fermentation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(13): 4217-4232.

[34] 蓝黄博恩. 异常威克汉姆酵母对番茄病害的生物防治及其机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2022.
Boen Lanhuang. Research on the biocontrol efficacy of *Wickerhamomyces* anomalus on diseases of tomatoes and the mechanisms involved[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2022 (in Chinese).

[35] Zhang YF, Waghmare PR, Zhang ZF, Gao LW. Co-production of sugars and aroma compounds from tobacco waste using biomass-degrading enzymes produced by *Aspergillus brunneoviolaceus* Ab-10[J]. Archives of Microbiology, 2024, 206(7): 291.

[36] Wu X, Hu YQ, Wang Q, Liu J, Fang S, Huang DW, Pang XL, Cao JM, Gao YM, Ning Y. Study on the correlation between the dominant microflora and the main flavor substances in the fermentation process of cigar tobacco leaves[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1267447.

[37] Lundell TK, Mäkelä MR, Hildén K. Lignin-modifying enzymes in filamentous basidiomycetes ecological, functional and phylogenetic review[J]. Journal of Basic Microbiology, 2010, 50(1): 5-20.

[38] Wang F, Jin YM, Chen XN, Zhang Y, Jiang XL, Zhang G, Chen GQ, Yang MJ, Leng FF, Li HT, Wu LJ, Zhang HB. The diversity, structure and function of microbial communities changes across aging process of tobacco leaves[J]. Environmental Research Communications, 2022, 4(9): 095012.