

烤烟烘烤特性

THE CURING CHARACTERISTICS

徐秀红 王传义 主编

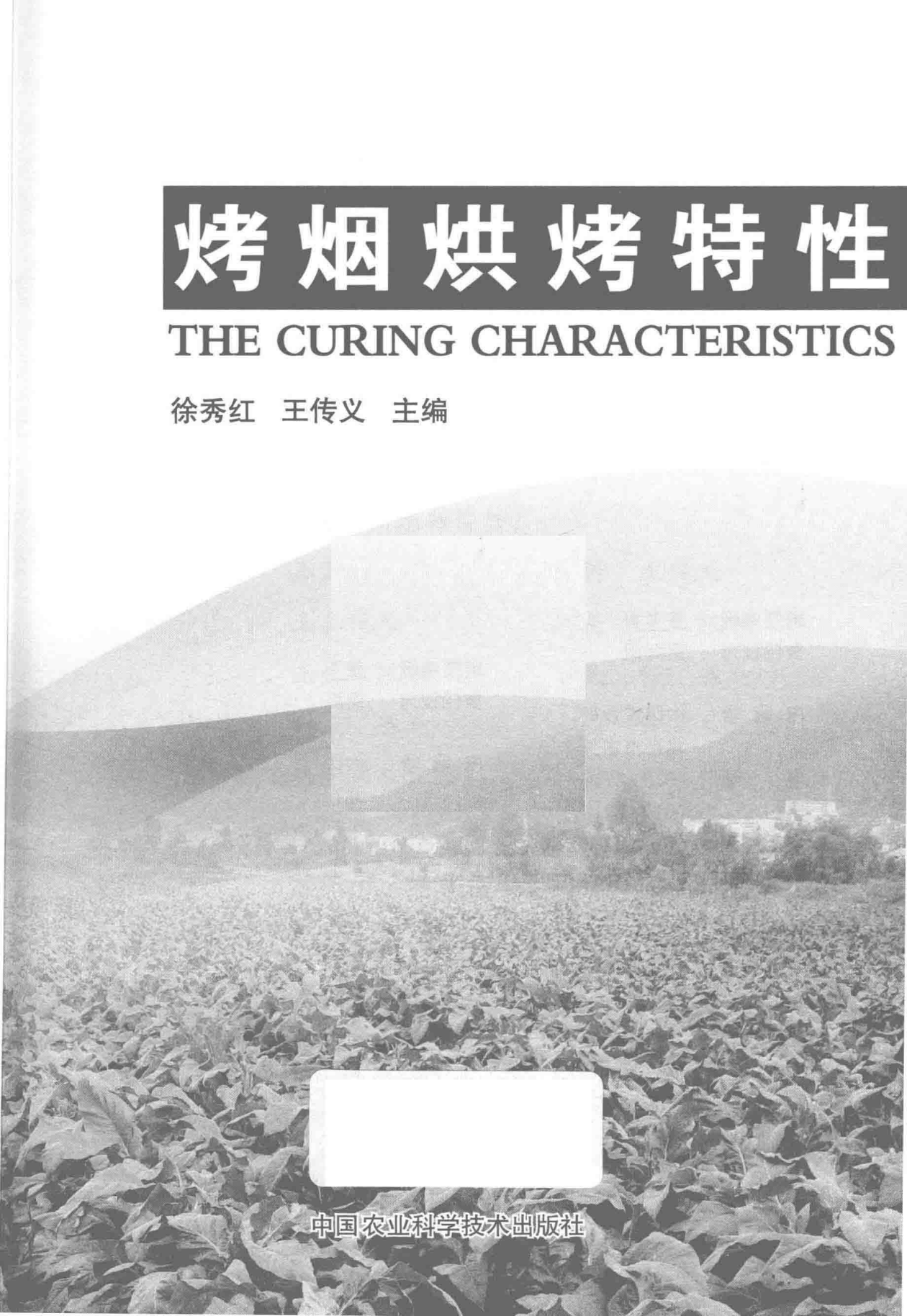


中国农业科学技术出版社

烤烟烘烤特性

THE CURING CHARACTERISTICS

徐秀红 王传义 主编



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

烤烟烘烤特性 / 徐秀红, 王传义主编. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2015. 10

ISBN 978 - 7 - 5116 - 1988 - 4

I. ①烤… II. ①徐…②王… III. ①烟叶烘烤 IV. ①TS44

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 017416 号

责任编辑 贺可香

责任校对 贾海霞

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010) 82106638 (编辑室) (010) 82106624 (发行部)

(010) 82109703 (读者服务部)

传 真 (010) 82106650

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 各地新华书店

印 刷 者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 710 mm × 1 000 mm 1/16

印 张 12.75

字 数 230 千字

版 次 2015 年 10 月第 1 版 2015 年 10 月第 1 次印刷

定 价 48.00 元

《烤烟烘烤特性》

编委会

主 编：徐秀红 王传义

副主编：许家来 任 民 龚达平

编著人员：（按姓氏笔画排序）

王卫锋	王永利	王术科	王传义
王英俊	王松峰	王绍美	王春凯
王爱华	付秋娟	任 民	任 杰
刘 伟	刘传锋	刘 莉	许家来
孙福山	杨永花	李凤霞	张兴伟
郝贤伟	倪 超	徐秀红	黄 龙
龚达平	谭效磊	管志坤	管恩森

前 言

烘烤是烤烟生产中一个重要的环节，田间收获的鲜烟叶必须经过烘烤才能体现和固定其优良品质，成为商品烟叶。烘烤过程是充分显现、固定和改善烟叶田间所形成的潜在质量的过程，也是决定烟叶最终质量的关键环节。而烟叶烘烤特性与烟叶烘烤有着极为密切的关系，因此，对烟叶烘烤特性的研究，在国内外一直深受重视。研究烟叶烘烤特性及其影响因素，探索改善烟叶烘烤特性的途径，对于提高烟叶烘烤质量具有十分重要的意义。

烤烟品种的烘烤特性，虽然公认为重要性状，但对烟叶烘烤特性的具体评价标准，国内外研究甚少，缺乏统一的评价规范。在查阅相关资料的基础上，通过对代表性烤烟品种的烘烤特性相关指标进行研究和筛选，制订了烤烟品种烘烤特性评价的行业标准。

对烟叶烘烤特性的遗传规律，国内外研究甚少。育种过程中对烘烤特性缺乏必要的、有针对性的选择，有时会使育成品种带有较大的缺陷，这也是一些工业需求较大的特色品种烘烤难题得不到根本解决的原因。开展烘烤特性的遗传效应研究，可以为有目的地选育烘烤特性好的品种及有针对性地进行现有品种的烘烤特性提供理论依据；对控制烘烤性状的基因进行分子标记和 QTL 定位，可以为利用生物技术加速育种过程中对烘烤性状的选育及现有品种烘烤特性的改良提供辅助手段，培育烘烤特性好的优质烟草品种，满足烟叶生产和卷烟品牌的需要。

本书内容包括烤烟烘烤特性的概念和判定方法、烤烟烘烤特性的遗传分

析、分子标记与分子遗传连锁图谱、烤烟分子遗传连锁图谱的构建、烤烟烘烤特性 QTL 定位、烤烟烘烤特性与其他性状的相关性、主栽烤烟品种烘烤特性、烤烟品种烘烤特性评价标准等内容。本书内容基于作者多年研究成果，对烤烟烘烤特性的定向选育、改良及分子遗传学研究等具有较重要的参考意义。

本书在编写过程中得到了相关领导、同事、研究生的支持和帮助，在此借本书的出版向他们表示衷心的感谢！

对烤烟烘烤特性的研究和利用还将不断深入、发展和完善，加之作者水平有限，书中难免有疏漏和不当之处，敬请各位专家和读者批评指正。

编著者

2015 年 1 月

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 烤烟烘烤特性的概念	(1)
一、烘烤特性的概念	(1)
二、烘烤特性的影响因素	(1)
三、烘烤特性与烤后烟叶外观质量	(1)
第二节 烤烟烘烤特性判定方法	(2)
一、感官判断方法	(2)
二、测定指标	(2)
第二章 烤烟烘烤特性的遗传分析	(4)
第一节 植物数量性状主基因 + 多基因混合遗传模型	(4)
一、分离世代的理论分布	(4)
二、遗传模型	(4)
三、试验群体类型	(5)
四、IECM 算法及对数极大似然函数	(5)
五、筛选最优模型及估算遗传参数	(5)
第二节 烤烟易烤性的遗传分析	(5)
一、材料与方法	(5)
二、结果与分析	(6)
三、结论	(15)
第三节 烤烟耐烤性的遗传分析	(16)
一、材料与方法	(16)
二、结果与分析	(16)
三、结论	(24)
第四节 烤烟烘烤特性的遗传分析	(24)

一、材料与方法	(24)
二、结果与分析	(25)
三、结论	(35)
第三章 分子标记与分子遗传连锁图谱	(36)
第一节 DNA 分子标记技术	(36)
一、DNA 分子标记的概念	(36)
二、DNA 分子标记的类型	(37)
三、DNA 分子标记的优点	(38)
第二节 分子标记遗传连锁图谱	(39)
一、影响遗传图谱构建的因素	(39)
二、遗传图谱构建的方法与软件	(41)
三、烟草分子标记遗传图谱的构建	(41)
第三节 SLAF 技术	(43)
一、SLAF 技术简介	(43)
二、SLAF 技术实验流程	(44)
三、SLAF 技术信息分析流程	(46)
第四章 烤烟分子遗传连锁图谱的构建	(49)
第一节 烤烟 SSR 分子标记遗传连锁图谱构建	(49)
一、材料与方法	(49)
二、结果与分析	(50)
第二节 烤烟高密度分子遗传连锁图谱的构建	(52)
一、材料与方法	(52)
二、结果与分析	(52)
第五章 烤烟烘烤特性 QTL 定位	(57)
第一节 植物数量性状 QTL 定位	(57)
一、QTL 定位基本原理和作图方法	(57)
二、QTL 定位研究新进展	(58)
三、QTL 定位研究的发展趋势	(58)
第二节 基于烤烟 SSR 分子标记遗传连锁图谱的烘烤特性 QTL 定位	(59)

一、材料与方法	(59)
二、结果与分析	(60)
三、结论与讨论	(68)
第三节 基于烤烟高密度分子遗传连锁图谱的烘烤特性 QTL 定位 ...	(69)
一、材料与方法	(69)
二、结果与分析	(70)
三、结论与讨论	(75)
第四节 烤烟烘烤特性 QTL 的应用验证	(84)
一、部分基于 SSR 分子标记遗传连锁图谱的 QTL 及连锁标记应用 验证	(84)
二、烤烟高密度遗传连锁图谱 LG6 上 SNP 分子标记与烘烤性状的 关联分析	(87)
第六章 烤烟烘烤特性与其他性状的相关性	(89)
第一节 烤烟烘烤性状间的相关性	(89)
一、材料与方法	(89)
二、结果	(90)
三、讨论	(91)
第二节 烤烟烘烤特性与烤后烟叶化学成分的相关性	(92)
一、材料与方法	(92)
二、结果	(93)
三、讨论与结论	(96)
第七章 主栽烤烟品种烘烤特性	(98)
第一节 云烟 85 等 8 个主栽烤烟品种的烘烤特性	(98)
一、材料与方法	(98)
二、结果与分析	(99)
三、8 个烤烟品种烘烤特性定位	(166)
第二节 NC55 等 4 个主栽烤烟品种的烘烤特性	(168)
一、材料与方法	(168)
二、结果与分析	(169)
三、4 个主栽烤烟品种烘烤特性定位	(181)

第八章 烤烟品种烘烤特性评价标准（YC/T 311—2009） (182)

 一、范围 (182)

 二、规范性引用文件 (182)

 三、术语和定义 (182)

 四、取样要求 (183)

 五、烘烤特性评价指标 (184)

 六、烘烤特性判定规则 (185)

参考文献 (189)

第一章 绪 论

第一节 烤烟烘烤特性的概念

一、烘烤特性的概念

烘烤特性指烟叶在烘烤过程中表现出的包括变黄和脱水干燥的难易程度，变黄速度和干燥速度同步难易程度，变黄后是否容易定色等特征特性，包括易烤性和耐烤性两个方面。易烤性反映烟叶在烘烤过程中变黄、脱水的难易程度及同步程度，主要反映烟叶的变黄特性。耐烤性主要指烟叶在变黄和定色期间对烘烤环境条件的耐受性。烟叶的易烤性和耐烤性是烟叶烘烤特性的相互联系又相对独立的两个方面，有的烟叶较为易烤但不一定耐烤；有的烟叶较为耐烤但不一定易烤。通常，把那些既易烤又耐烤的烟叶称为烘烤特性好的烟叶。

二、烘烤特性的影响因素

影响烟叶烘烤特性的因素主要有遗传因素、土壤与施肥、气候因素、烟叶部位和采收成熟度等。烟叶烘烤特性受遗传制约，控制烘烤特性基因与某些性状基因存在连锁关系。

三、烘烤特性与烤后烟叶外观质量

烤后烟叶的外观质量是烟叶烘烤特性的外在表现，一般易烤性好的烟叶，烟叶容易变黄，烤后黄烟多，含青烟（微带青、青黄）少；耐烤性好的烟叶，烤后杂色烟叶（挂灰、黑糟等）少；易烤而不耐烤的烟叶，烤后含青烟少，但杂色烟比例较大；不易烤但耐烤的烟叶，烤后杂色烟较

少，而含青烟相对较多；不易烤且又不耐烤的烟叶，烘烤特性差，既容易烤青又容易烤杂，烤后黄烟比例低，而含青烟和杂色烟比例都比较高；既易烤又耐烤的烟叶，烘烤特性好，烤后黄烟比例高，不易出现烤青烟和杂色烟。

第二节 烤烟烘烤特性判定方法

一、感官判断方法

田间正常成熟的烤烟品种，烟叶落黄好，手摸质地柔软、弹性好的，一般烘烤特性好；烟叶落黄差，手摸叶质硬脆、弹性差的，一般烘烤特性差。

二、测定指标

（一）易烤性测试指标

1. 叶绿素降解速率及降解量

叶绿素降解量指烘烤 72h 时，烟叶叶绿素含量比采收后的成熟鲜烟叶叶绿素含量降低的百分率。叶绿素降解速率指烘烤 72h 时，单位时间叶绿素的平均降解量。

2. 失水均衡性

烟叶失水均衡性指烟叶烘烤 48h（变黄期）的失水速率与烘烤 48 ~ 72h（定色前期）的失水速率之比。烟叶失水速率指一定烘烤时间内，单位时间烟叶水分的平均损失量。

3. 暗箱试验变黄时间（指数）

暗箱试验指在黑暗、不通风、室温环境下，观察烟叶的变黄特征和褐变特征。暗箱试验变黄时间指在暗箱试验中烟叶变至全黄的时间（国家烟草专卖局，2009）。暗箱试验变黄指数（倪超，2010；倪超等，2011）：暗箱试验中每 24h 测定一次烟叶颜色变化，记录烟叶变黄比例和褐变比例，累计测 9 次，取前 4 次变黄稳定期数值算出变黄指数（ YI ）。 $YI = \sum Y/n$ ，其中， n 为统计次数， Y 为各次的变黄比例。变黄时间越短或变黄指数越大，表示易烤性越好；变黄时间越长或变黄指数越小，表示易烤性越差。

(二) 耐烤性测试指标

1. 多酚氧化酶活性

可用烘烤 24h、48h、72h 和 96h 时的多酚氧化酶活性的平均值来代表。

2. 暗箱试验变褐时间（指数）

暗箱试验变褐时间指在暗箱试验中烟叶由全黄至叶片褐化三成的时间。暗箱试验变褐指数（郝贤伟，2012）：暗箱试验中每 24h 测定一次烟叶颜色变化，记录烟叶变黄比例和褐变比例，累计测 9 次，从开始变褐进行变褐比例统计，算出变褐指数（BI）。 $BI = \sum B/n$ ，其中， n 为统计次数， B 为各次的变褐比例。变褐时间越长或变褐指数越小，表示耐烤性越好；变褐时间越短或变褐指数越大，表示耐烤性越差。

(三) 烘烤特性测试指标

可用烘烤分值来判断烟叶的整体烘烤特性。待烟叶成熟后，统一工艺进行烘烤，根据烤后烟叶的外在表现（王传义，2008），参照蔡宪杰等（2004）的方法，对烤后烟叶以黄烟 8~10 分、微带青 6~7 分、青黄 5 分、杂色 3~4 分和黑糟 0~2 分的标准进行打分。烘烤分值越高，表示烘烤特性越好；烘烤分值越低，表示烘烤特性越差。

第二章 烤烟烘烤特性的遗传分析

第一节 植物数量性状主基因 + 多基因混合遗传模型

烟草育种所注重的若干性状，一般都是数量性状（quantitative trait）。数量性状由多个基因控制，每个基因控制性状表现的一部分，难以根据表型的差异检测出具体基因。经典数量遗传学一般只能从一组基因的总体上得到有关遗传效应及其相对重要的信息。而对植物遗传改良来说，需要有关数量性状遗传体系以及其中具体基因的重要信息，以便通过育种手段进行遗传操作。植物数量性状“主基因 + 多基因”混合遗传模型的出现，能有效解决上述问题。“主基因 + 多基因”混合遗传模型是植物数量性状的通用模型，盖钧镒等（2003）在此基础上发展了一套适合植物遗传分析的分离分析方法。该方法适于利用杂种分离世代的数据对育种性状的遗传组成做出判断，制订相应的育种策略，也可用以校验 QTL 定位所揭示的性状遗传组成。

一、分离世代的理论分布

在二倍体核遗传、不存在母体效应、主基因和多基因无互作和连锁、配子和合子均无选择的假定下，每一主基因型由于多基因和环境的修饰呈正态分布，整个分离世代的表型分布为多个主基因型正态成分分布的混合分布；不分离世代如 P_1 、 P_2 、 F_1 等的表型分布为正态分布。

二、遗传模型

目前，植物数量性状“主基因 + 多基因”混合遗传模型主要包括以下几种模型：一对主基因（A）、两对主基因（B）、多基因（C）、一对主基因 + 多基因（D）、两对主基因 + 多基因（E）、三对主基因（F）、三对主基

因 + 多基因(G)。

三、试验群体类型

单世代分析, P_1 、 P_2 、DH 或 RIL 群体 3 个世代的联合分析, P_1 、 P_2 、 F_1 、 F_2 群体 4 个世代的联合分析, P_1 、 P_2 、 F_1 、 F_2 、 $F_{2:3}$ 群体 5 个世代的联合分析, P_1 、 P_2 、 F_1 、 F_2 、 B_1 、 B_2 群体 6 个世代的联合分析以及 P_1 、 P_2 、 F_1 、 $F_{2:3}$ 、 $B_{1:2}$ 、 $B_{2:2}$ 群体 6 个家系世代试验联合分析。

四、IECM 算法及对数极大似然函数

按照试验群体类型建立各种模型的混合分布函数, 并建立各模型的对数极大似然函数。由各试验群体及世代的观察次数分布通过 IECM (iterated expectation and conditional maximization) (章元明等, 2000) 算法对各模型的对数极大似然函数估计出相应的各世代、各成分分布的参数, 以及相应的似然函数值。

五、筛选最优模型及估算遗传参数

由模型的似然函数值计算出 AIC (Akaike's information criterion) 值 (Akaike, 1977), AIC 值最小的模型为最佳模型, 模型间 AIC 值差异不大时要进行适合性测验, 这组测验包括均匀性 U_1^2 、 U_2^2 及 U_3^2 检验, W^2 检验和 D_n 检验, 同时选得各成分分布参数。采用最小二乘法由最优遗传模型的各项成分分布参数计算出主基因和多基因的相关遗传参数。

第二节 烤烟易烤性的遗传分析

一、材料与方法

(一) 材料

易烤性好的品种云烟 85 (母本) 和易烤性差的品种大白筋 599 (父本) 杂交组合构成的 4 世代家系群体 (P_1 、 P_2 、 F_1 、 F_2); 易烤性好的品种中烟 100 (母本) 和易烤性差的品种翠碧 1 号 (父本) 杂交组合构成的 4 世代家系群体及 6 世代家系群体 (P_1 、 P_2 、 F_1 、 F_2 、 B_1 、 B_2)。

(二) 方法

烟叶易烤性测定指标为苗期变黄指数。在中国农业科学院烟草研究所青岛试验基地种植试验材料,小十字期进行假植,4~5片真叶时移栽到直径13~14cm的小花盆中,第8片真叶长出后打顶,留叶8片。14 d后,自上至下采收3片叶,以报纸包成书本状,放置在温度36℃、相对湿度90%的恒温恒湿箱内,每24h测定一次变黄比例,累计测7次,算出变黄指数(藤田茂隆等,1984)。变黄指数(YI) = $\sum Y/n$, n 为测定次数, Y 为各次的变黄比例。YI值越大,表示易烤性越好;YI值越小,表示易烤性越差。

(三) 数据分析

采用植物数量性状主基因+多基因混合遗传模型分离分析方法。通过极大似然法和IECM(iterated expectation and conditional maximization)算法对混合分布中的有关成分分布参数做出估计,然后利用AIC(Akaike's information criterion)准则和一组适合性测验,包括均匀性 U_1^2 、 U_2^2 和 U_3^2 检验,Smirnov检验(${}_nW^2$)和Kolmogorov检验(D_n),选择最优遗传模型,并估计主基因和多基因效应值、方差等遗传参数。

通过亲本和 F_1 同质群体提供环境误差方差的无偏估计,可估计误差方差 σ^2 ,群体分布方差 σ_f^2 ,群体表型方差 σ_p^2 ,通过以下公式计算可得到主基因和多基因的遗传方差(σ_{mg}^2 、 σ_{pg}^2)和遗传率(h_{mg}^2 、 h_{pg}^2)。

$$\sigma_{mg}^2 = \sigma_p^2 - \sigma_f^2; h_{mg}^2 = \sigma_{mg}^2 / \sigma_p^2$$

$$\sigma_{pg}^2 = \sigma_f^2 - \sigma^2; h_{pg}^2 = \sigma_{pg}^2 / \sigma_p^2$$

二、结果与分析

(一) 云烟85×大白筋599组合4世代群体

1. 变黄指数的次数分布

各世代变黄指数的次数分布见表2-1。 P_1 、 P_2 的平均值分别为28.71和14.25, F_1 的平均值为18.35,介于两亲本之间,并偏向于不易烤亲本 P_2 。 F_2 的平均值为18.86,且变黄指数多集中在14~21。可以看出 F_2 世代呈单峰较明显的偏态分布,变黄指数的遗传表现出主基因的特征,进而说明烤烟品种易烤性的遗传可能受主基因控制。

表 2-1 变黄指数次数分布

世代	变黄指数 (%)							n	$\bar{x}$	SD
	0~7	7~14	14~21	21~28	28~35	35~42	42~49			
P ₁			1	11	12	1		25	28.71	13.57
P ₂		12	13					25	14.25	5.048
F ₁		1	19	5				25	18.35	7.577
F ₂		36	145	68	11			260	18.86	22.18

注: n 为样本数, $\bar{x}$ 为样本平均数, SD 为标准差, 空白处表示次数为 0, 下同。

2. 遗传模型的分析结果

用主基因 + 多基因混合遗传模型的多世代联合分析法对本组合 4 世代的易烤性变黄指数进行分析, 通过 IECM 算法, 获得 1 对主基因 (A)、2 对主基因 (B)、多基因 (C)、1 对主基因 + 多基因 (D) 和 2 对主基因 + 多基因 (E) 共 5 类 24 种遗传模型的极大似然函数值 (Max-likelihood-value) 和 AIC 值 (表 2-2)。根据 AIC 准则, 在备选遗传模型中, AIC 值最小者为最优模型。

由表 2-2 看出, AIC 值较低的为 D0、D4、E1 和 E2 共 4 个模型, 其 AIC 值分别为 1897.28、1899.04、1895.99、1894.83。初步选取这 4 个模型作为候选遗传模型。

表 2-2 各遗传模型的极大似然值和 AIC 值

模型	极大似然值	AIC	模型	极大似然值	AIC	模型	极大似然值	AIC
A1	-952.51	1 917.02	D4	-943.52	1 899.04	B6	-1 012.43	2 032.86
A2	-977.22	1 964.45	C0	-957.45	1 926.91	E0	-938.92	1 901.84
A3	-1017.79	2 045.58	C1	-960.11	1 930.22	E1	-938.99	1 895.99
A4	-963.62	1 937.24	B1	-941.31	1 904.63	E2	-942.41	1 894.83
D0	-940.64	1 897.28	B2	-943.84	1 901.69	E3	-958.10	1 922.20
D1	-943.52	1 901.04	B3	-970.58	1 951.16	E4	-958.94	1 921.89
D2	-960.10	1 932.21	B4	-970.75	1 949.50	E5	-965.44	1 936.88
D3	-960.11	1 932.23	B5	-1 012.43	2 034.86	E6	-960.11	1 924.23

对这 4 个备选模型, 进行适合性 (U_1^2 、 U_2^2 、 U_3^2 、 W^2 和 D_n) 检验 (表 2-3), 选择统计量达到显著水平个数最少的模型作为最优模型。统计