

湖北地区烟草青枯菌系统发育分析

刘海龙¹, 黎妍妍^{1,2}, 郑露¹, 李锡宏², 黄俊斌^{1*}

(1. 华中农业大学植物科技学院, 湖北省作物病害监测和安全控制重点实验室, 武汉 430070;

2. 湖北省烟草科学研究院, 武汉 430030)

摘要: 本研究采用青枯菌演化型分类框架, 对来源于湖北烟区的 48 个烟草青枯菌进行系统发育学分析并进行序列变种鉴定, 以明确该地区烟草青枯菌的菌系分化。基于青枯菌内切葡聚糖酶基因 (*egl*) 和 DNA 蛋白修复基因 (*mutS*) 的系统发育学分析结果表明, 48 个供试菌株属于青枯菌亚洲分支 (演化型 I) 的 3 个序列变种, 分别为序列变种 15、17 和 44, 未发现我国已报道的烟草青枯菌序列变种 34。其中序列变种 17 和 44 为优势菌系, 且均来源于恩施地区; 序列变种 15 只包含来源于十堰地区的 3 个菌株。本研究表明湖北地区烟草上的青枯菌存在一定程度的遗传分化。

关键词: 烟草; 青枯菌; 序列变种; 内切葡聚糖酶基因; DNA 修复蛋白基因

中图分类号: S572.08

文章编号: 1007-5119 (2015) 02-0081-06

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2015.02.015

Phylogenetic Analysis of Tobacco *Ralstonia solanacearum* strains from Hubei Province

LIU Hailong¹, LI Yanyan^{1,2}, ZHENG Lu¹, LI Xihong², HUANG Junbin^{1*}

(1. Key Laboratory of Plant Pathology of Hubei Province, College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. Tobacco Research Academy of Hubei Province, Wuhan 430030, China)

Abstract: For further details physiological specialization of *Ralstonia solanacearum* strains isolated from Hubei Province, 48 *R. solanacearum* strains of tobacco were analyzed using the phylotype classification schemes. Phylogenetic analysis of endoglucanase gene (*egl*) and DNA mismatch repair protein gene (*mutS*) sequences showed that all isolates belonged to phylotype I, including 3 different sequevars 15, 17 and 44. 19 strains were belonged to sequevar 17 and 26 strains were belonged to sequevar 44, Only 3 strains were identified as sequevar 15. *R. solanacearum* strains of tobacco from Hubei Province had genetic differentiation of sequevar level.

Keywords: tobacco; *Ralstonia solanacearum*; sequevar; *egl*; *mutS*

烟草青枯病是由青枯雷尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*) 引起的危害世界烟叶生产的重要土传病害, 1864 年在印度尼西亚首次报道了青枯菌对烟草的毁灭性危害^[1]。1940 年前后, 该病在美国的北卡罗来纳州猖獗危害, 此后, 又逐渐成为日本、澳大利亚、韩国等许多产烟国家烟草上重要病害^[2]。烟草青枯病在我国长江流域及其以南烟区普遍发生, 其中尤以福建、贵州、云南、湖南及广西烟区危害最为严重^[3]。近年来, 该病逐渐向北方烟区扩展蔓延, 辽宁、河南及陕西等省均有该病发生的报

道^[4-5]。

传统的分类框架是根据青枯菌的寄主范围或对 3 种双糖和 3 种己醇的利用能力将其划分为 5 个生理小种 (race 1, 2, 3, 4 和 5) 或 6 个生化型 (biovar I, II A, II T, III, IV 和 V)^[6-7]。2005 年, Fegan 等^[8]提出了新的青枯菌划分框架, 将青枯菌依次划分为种 (Species)、演化型 (Phylotype)、序列变种 (Sequevar) 和克隆 (Clone) 4 个分类水平, 并分别建立了与之相对应的鉴定方法。其中演化型的划分与青枯菌地理起源紧密相关, 即演化型 I、II、

基金项目: 中国烟草总公司湖北省公司重点项目 (027Y2013-002)

作者简介: 刘海龙, 男, 硕士生, 从事植物细菌病害研究。E-mail: gsndliuhailong@126.com。*通信作者, E-mail: junbinhuang@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2015-01-05

修回日期: 2015-01-29

III和IV。基于青枯菌内切葡聚糖酶基因 (*egl*) 和 DNA 修复蛋白基因 (*mutS*), 每一个演化型又可划分为不同的序列变种, 目前青枯菌已划分出 53 个序列变种^[9-10]。

我国对烟草青枯病菌菌系的研究大多以传统的生理小种和生化型测定为主, 而应用最新的演化型分类框架对烟草青枯菌的菌系分化研究较少。郑向华等^[11]采用 RAPD 法对广东省烟草青枯病菌的遗传多样性进行了研究; Xu 等^[12]和潘哲超等^[13]采用演化型分类框架对福建及贵州等地的 62 个烟草青枯菌菌株进行了系统发育分析。近年来, 随着湖北烟草生产的不断发展, 烟草青枯病的发生也日趋严重, 本研究在湖北恩施地区的烟草青枯菌进行了生理分化研究的基础上^[14], 采用国际最新的青枯菌演化型分类框架, 对湖北省青枯病危害较重烟区的烟草青枯菌进行系统发育学分析并进行序列变种鉴定, 为湖北地区青枯病的防控工作及烟草的抗青枯病育种提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

2013 年和 2014 年分别从湖北省恩施州和十堰市的 12 个种烟乡镇采集分离烟草青枯菌株, 共获得 48 个烟草青枯菌株。供试菌株和参考菌株见表 1。

1.2 供试菌株 *egl* 基因的扩增

选用 MiniBEST Bacterial Genomic DNA Extraction 试剂盒 (ver3.0, 大连宝生物工程有限公司) 提取 48 个供试菌株基因组 DNA, 以此 DNA 为模板, 对供试菌株的 *egl* 基因进行 PCR 扩增。

用于扩增内切葡聚糖酶 (*egl*) 基因的引物为: Endo-F (5'-ATGCATGCCGCTGGTCGCCGC-3') 和 Endo-R(5'-GCGTTGCCCGGCACGAACACC-3')^[15]。PCR 扩增采用 25 μ L 反应体系, 其中包括 2 \times Es Taq MasterMix 12.5 μ L, 引物 Endo-F 和 Endo-R 各 1 μ L, DNA 50ng, RNase-Free 水补足 25 μ L。反应程序为 96 $^{\circ}$ C 9 min; 95 $^{\circ}$ C 1 min, 64 $^{\circ}$ C 1 min 和 72 $^{\circ}$ C 2 min, 30 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 保存。PCR 扩增产物回收后交由武汉擎科创新生物科

技有限公司测序。

1.3 供试菌株 *mutS* 基因的扩增

用于扩增青枯菌 DNA 修复蛋白 (*mutS*) 基因的引物为: mutS-RsF.1570 (5'-ACAGCGCCTTGA GCCGGTACA-3') 和 mutS-RsR.1926 (5'-GCTGAT CACCGGCCCGAACAT-3')^[16]。PCR 扩增采用 25 μ L 反应体系, 其中包括 2 \times Es Taq MasterMix 12.5 μ L, 引物 mutS-RsF.1570 和 mutS-RsR.1926 各 1 μ L, DNA 50 ng, RNase-Free 水补足 25 μ L。反应程序为 96 $^{\circ}$ C 9 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s 和 72 $^{\circ}$ C 1 min, 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增产物回收后交由武汉擎科创新生物科技股份有限公司测序。

1.4 供试菌株的序列分析

将测序获得的 48 个菌株的 *egl* 和 *mutS* 基因序列经 BioEdit7.2.5 软件^[13]编辑后, 提交给 GenBank 数据库, 获得登录号见表 1。然后应用 Clustal W 软件对序列进行比对, 用 MEGA6.0.5 (<http://www.megasoftware.net/>) 软件进行系统发育分析, 采用邻接法 (NJ) 构建发育树, 自举分析为 1000 次重复抽样检验得到的自举置信度。从 GenBank 选取 17 个已确定序列变种归属的参考菌株序列作为参考, 以确定供试菌株在系统发育树中的位置。

2 结果

2.1 青枯菌 *egl* 基因系统发育分析结果

对来源于湖北地区烟草青枯病菌的 *egl* 基因部分序列进行系统发育分析。结果表明, 所有 48 个参试菌株分布于亚洲分支 (演化性) 下的 3 个亚组内 (图 1)。采用 GenBank 数据库中已知序列变种的标准菌株序列作为参照, 3 个亚组分别被鉴定为序列变种 15、17 和 44。其中序列变种 15 以我国台湾的番茄青枯菌菌株 Pss358 为参考, 该序列变种仅包括 3 个来源于十堰烟区的分离菌株, 寄主品种为 '云烟 87'; 以来源于广西花生青枯菌菌株 P11 作为标准菌株的序列边变种 17, 包括 19 个菌株,

表 1 供试烟草青枯菌及上传到基因数据库的基因序列

Table 1 *Ralstonia solanacearum* strains used in this study and gene sequences deposited in GenBank

菌株	地理来源	寄主	演化型	序列变种	GenBank 登录号	
					<i>egl</i>	<i>mutS</i>
HBXE1	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	17	KP316522	KP316474
HBXE2	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	17	KP316523	KP316475
HBXE3	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	17	KP316524	KP316476
HBXE5	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316525	KP316477
HBXE6	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316526	KP316478
HBXE7	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316527	KP316479
HBXE8	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316528	KP316480
HBXE9	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316529	KP316481
HBXE10	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316530	KP316482
HBXE11	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316531	KP316483
HBXE12	恩施州宣恩县晓关镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316532	KP316484
HBXEJY1	恩施州宣恩县椒园镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316533	KP316485
HBXEJY2	恩施州宣恩县椒园镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316534	KP316486
HBXEJY3	恩施州宣恩县椒园镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316535	KP316487
HBXEJY4	恩施州宣恩县椒园镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316536	KP316488
HBXF1	恩施州咸丰县忠堡镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316537	KP316489
HBXF2	恩施州咸丰县忠堡镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316538	KP316490
HBXF3	恩施州咸丰县忠堡镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316539	KP316491
HBXF4	恩施州咸丰县忠堡镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316540	KP316492
HBXF5	恩施州咸丰县忠堡镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316541	KP316493
HBXF6	恩施州咸丰县忠堡镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316542	KP316494
HBXF7	恩施州咸丰县忠堡镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316543	KP316495
HBXF8	恩施州咸丰县忠堡镇	烟草 / 毕纳 1 号	I	44	KP316544	KP316496
HBXFDJ1	恩施州咸丰县丁寨乡	烟草 / K326	I	17	KP316545	KP316497
HBXFDJ2	恩施州咸丰县丁寨乡	烟草 / K326	I	17	KP316546	KP316498
HBLC1	恩施州利川市柏杨坝镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316513	KP316465
HBLC2	恩施州利川市柏杨坝镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316514	KP316466
HBLC3	恩施州利川市柏杨坝镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316515	KP316467
HBLC4	恩施州利川市柏杨坝镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316516	KP316468
HBLC6	恩施州利川市柏杨坝镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316517	KP316469
HBBD1	恩施州巴东县大支坪镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316499	KP316451
HBBD3	恩施州巴东县大支坪镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316500	KP316452
HBBD4	恩施州巴东县大支坪镇	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316501	KP316453
HBES1	恩施州恩施市三岔乡	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316502	KP316454
HBES2	恩施州恩施市盛家坝乡	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316503	KP316455
HBES3	恩施州恩施市盛家坝乡	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316504	KP316456
HBES4	恩施州恩施市龙凤镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316505	KP316457
HBES5	恩施州恩施市龙凤镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316506	KP316458
HBES6	恩施州恩施市龙凤镇	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316507	KP316459
HBLF2	恩施州来凤县旧司乡	烟草 / 云烟 87	I	44	KP316518	KP316470
HBHF1	恩施州鹤峰县燕子乡	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316508	KP316460
HBHF2	恩施州鹤峰县燕子乡	烟草 / 云烟 87	I	17	KP316509	KP316461
HBJS2	恩施州建始县高坪镇	烟草 / 鄂烟 1 号	I	44	KP316510	KP316462
HBJS3	恩施州建始县高坪镇	烟草 / 鄂烟 1 号	I	44	KP316511	KP316463
HBJS4	恩施州建始县高坪镇	烟草 / 鄂烟 1 号	I	17	KP316512	KP316464
HBSYFX1	十堰市房县土城镇	烟草 / 云烟 87	I	15	KP316519	KP316471
HBSYFX3	十堰市房县土城镇	烟草 / 云烟 87	I	15	KP316520	KP316472
HBSYFX4	十堰市房县土城镇	烟草 / 云烟 87	I	15	KP316521	KP316473
参考菌株						
R292	中国	桑树	I	12	AF295255	AY756801
JT523	留尼汪岛	马铃薯	I	13	AF295252	AY756803
Pss81	台湾	番茄	I	14	FJ561066	EU407338
Pss358	台湾	番茄	I	15	FJ561056	EU407366
P11	中国广西	花生	I	17	FJ561068	-
GMI1000	法属圭亚那	番茄	I	18	AL646053	AY756804
Pss219	台湾	番茄	I	34	EU407292	EU407360
O3	中国广西	橄榄树	I	44	FJ561069	-
M2	中国广东	桑树	I	48	FJ561067	-
K60	美国	番茄	II A	7	DQ657614	AY756799
IPO1609	荷兰	马铃薯	II B	1	EF371814	EF371849
MOLK2	菲律宾	香蕉	II B	3	EF371841	AY756813
CFBP734	马达加斯加岛	马铃薯	III	19	AF295274	AY756746
NCPPB332	津巴布韦	马铃薯	III	21	AF295276	AY756740
CMR30	喀麦隆	番茄	III	29	EF439748	EU439772
Psi7	印度尼西亚	番茄	IV	10	EF371804	AY756752
R.syzygii R28	印度尼西亚	丁香	IV	9	DQ011552	AY756777

分别来源于恩施烟区的宣恩、利川、咸丰、鹤峰、建始5县，寄主品种为‘毕纳1号’、‘云烟87’、‘K326’以及‘鄂烟1号’；序列变种44的标准菌株为我国广东油橄榄青枯菌菌株O3，该序列变种包括26个菌株，分别来源于恩施烟区的宣恩、利川、咸丰、建始、来凤、恩施6个县市，分离寄主品种为‘云烟87’、‘毕纳1号’和‘鄂烟1号’。

2.2 青枯菌 *mutS* 基因系统发育分析结果

通过对48个参试菌株的 *mutS* 基因部分序列系统发育结果表明，所有菌株分布于亚洲分支(演化性)下的2个亚组内(图2)。其中亚组1包含的菌株相当于由 *egl* 基因划分的序列变种44，而亚组2包含的菌株相当于由 *egl* 基因的序列变种15和序列变种17。

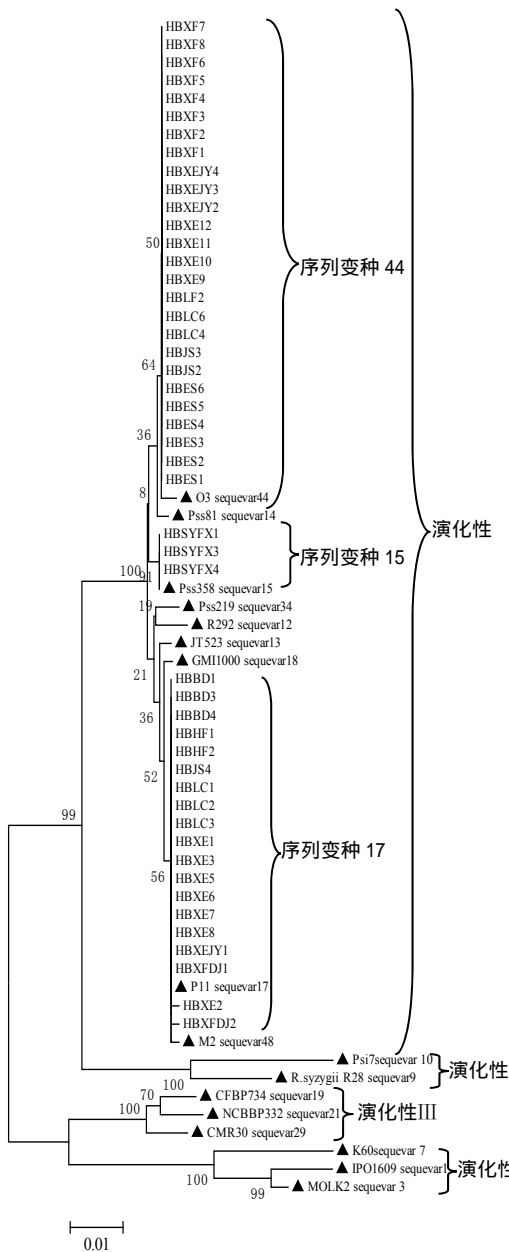


图1 基于青枯菌 *egl* 基因部分序列构建系统发育树
Fig. 1 Phylogenetic tree on partial sequences of endoglucanase (*egl*) gene from *Ralstonia solanacearum*

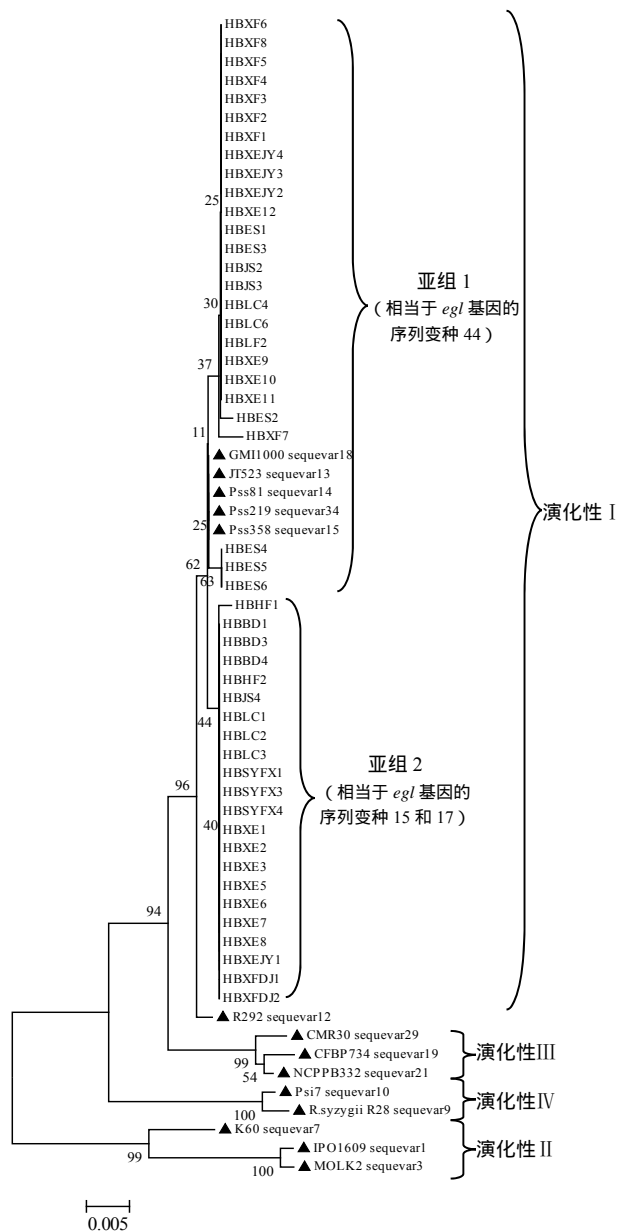


图2 基于 *mutS* 基因部分序列构建系统发育树
Fig. 2 Phylogenetic tree on partial sequences of *mutS* gene from *Ralstonia solanacearum*

3 讨论

青枯菌寄主范围广泛,能够侵染超过50个科的450种植物,不同地理来源的青枯菌在与其寄主长期演化过程中,表现出明显的生理分化和遗传多样性^[12]。

烟草青枯病是美国东南部地区烟草生产上的主要病害,Hong等^[17]基于Fegan和Prior提出的演化型分类框架,对该地区的烟草青枯菌进行了遗传多样性研究,结果表明,该地区烟草青枯菌属于美洲分支(演化性)的序列变种7。目前我国有22个植烟区,烟草青枯病在其中16个主要产烟区普遍发生,潘哲超等^[13]采用演化型分类框架,首次对来自我国福建、贵州、广东和广西地区的烟草青枯菌进行了研究,结果表明,我国烟草青枯菌存在演化性中的4个序列变种,即序列变种15,17,34和44,其中来源于福建的菌株属于序列变种34,而来源于贵州的菌株均属于序列变种17。在此基础上,本研究采用该分类框架,对分离自湖北省恩施和十堰烟区的48个烟草青枯菌,基于其 egl 基因的部分序列进行了系统发育分析和序列变种鉴定。鉴定结果表明,48个供试菌株全部属于演化性中的3个序列变种,即序列变种15、17和44,尚未发现在我国已报道的烟草青枯菌序列变种34。其中序列变种17和44无一例外全部来自恩施烟区,而且分离自同一县市不同乡镇的烟草青枯菌也可能分属于不同的序列变种,如宣恩县、咸丰县、利川市和建始县既存在烟草青枯菌序列变种17又有序列变种44,而分离自十堰烟区的菌株则均属于序列变种15。但由于本研究采集的菌株数目有限,因此,在湖北烟区除了序列变种15、17和44,是否还存在其他序列变种,十堰烟区除了序列变种15是否还存在其他序列变种,还需进一步研究;而分布于我国的烟草青枯菌,除了已报到的4个序列变种,是否还存在其他序列变种,以及各序列变种与国内省份或地区之间的对应关系,也需要进一步的研究验证。另外,本研究还采用青枯菌 $mutS$ 基因

的部分序列对48个供试菌株进行了系统发育分析,结果表明,48个菌株被划分为亚洲分支下的2个亚组,其中亚组1相当于 egl 基因的序列变种44,包括26个菌株,其均来自于恩施烟区;而亚组2相当于 egl 基因的序列变种15和序列变种17,包括3个来源于十堰烟区和19个来源于恩施烟区的菌株。

4 结论

本研究采用Fegan和Prior提出的青枯菌演化型分类框架,对来源于湖北烟区的48个烟草青枯菌,进行了系统发育分析和序列变种鉴定。鉴定结果表明,分布于湖北烟区的烟草青枯菌属于3个序列变种,即序列变种15、17和44。其中序列变种17和44为优势变种,且均来源于恩施烟区;序列变种15均来源于十堰烟区。选育抗病品种是防治烟草青枯病的重要措施,但由于青枯菌群体高度适应性和极强的变异性,使得抗青枯病烟草品种的选育和利用变得更为复杂困难。因此,弄清湖北省烟草青枯菌的序列变种及其地理分布,有利于从现有的烟草品种中筛选出抗青枯病品种,为该省抗病品种合理布局服务。

参考文献

- [1] Hayward A C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*[J]. Annual Review of Phytopathology,1991, 29: 65-87.
- [2] 朱贤朝,王彦亭,王智发. 中国烟草病害[M]. 北京: 中国农业出版社,2002.
- [3] 孔凡玉. 烟草青枯病的综合防治[J]. 烟草科技,2003(4): 42-43.
- [4] 陈瑞泰,朱贤朝,王智发,等. 全国16个主产烟省(区)烟草侵染性病害调研报告[J]. 中国烟草科学,1997,18(4): 1-7.
- [5] 成巨龙,罗晶,邹航,等. 陕西烟草青枯病的发生与病原鉴定[J]. 中国烟草学报,2014,20(5): 87-92.
- [6] He L Y, Sequeira L, Kelman A. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum*[J]. Plant Disease, 1983, 67: 1357-1361.
- [7] Hayward AC. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1964, 27: 265-277.

- [8] Fegan M, Prior P. How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex”[M]. St. Paul: APS, 2005: 449-462.
- [9] Cellier G, Prior P. Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato[J]. *Phytopathology*, 2010,100: 1250-1261.
- [10] Albuquerque G M, Santos L A, Felix K C, et al. Moko Disease-Causing strains of *Ralstonia solanacearum* from Brazil extend known diversity in paraphyletic phylotype II[J]. *Phytopathology*, 2014, 104 : 1175-1182.
- [11] 郑向华, 邓海滨, 刘琼光, 等. 广东省烟草青枯菌的菌系和遗传多样性[J]. *华中农业大学学报*, 2007, 26 (4) : 463-468.
- [12] Xu J, Pan Z C, Prior P, et al. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 125: 641-653.
- [13] 潘哲超, 徐进, 顾刚, 等. 福建及贵州等地烟草青枯菌系统发育分析[J]. *植物保护*, 2012, 38(1) :18-23.
- [14] 刘海龙, 黎妍妍, 严亚琴, 等. 湖北恩施地区烟草青枯菌的生理分化研究[J]. *中国烟草科学*, 2014, 35 (5) : 79-83.
- [15] Sagar V, Mian S, Chakrabarti S K, et al. Potato bacterial wilt in India caused by strains of phylotype , and of *Ralstonia solanacearum*[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2014, 138: 51-65.
- [16] Mahbou Somo Toukam G, Cellier G, Wicker E, et al. Broad diversity of *Ralstonia solanacearum* strains in Cameroon[J]. *Plant Disease*, 2009, 93 :1123-1130.
- [17] Hong J C, Norman D J, Reed D L. et al. Diversity among *Ralstonia solanacearum* strains isolated from the southeastern United States[J]. *Phytopathology*, 2012, 102: 924-936.

《烟草科技》2015年第4期目次

烟草 β -胡萝卜素羟化酶基因的转录表达模式及功能分析.....	魏攀, 史艳梅, 李锋, 等
β -氨基丁酸对铜胁迫下烟草生长的影响.....	朱奎正, 彭耀东, 陈祝, 等
植烟土壤颗粒分形特征及与主要养分的关系.....	李强, 张一扬, 陈丽鹃, 等
氧化剂和抗氧化剂处理对高温贮藏白肋烟 TSNA _s 形成的影响.....	孙温淑, 王瑞云, 周骏, 等
龙岩烟区烟草赤星病生态位研究.....	赖荣泉, 廖琳琳, 钟秀金, 等
加热状态下烟叶烟气的释放特征.....	刘珊, 唐培培, 曾世通, 等
打叶复烤过程中烟草逸出香味成分的捕集与分析.....	瞿永生, 梁国海, 任雯黎, 等
PI-TOF/MS 法逐口在线分析卷烟主流烟气中 7 种有机物.....	庞永强, 姜兴益, 罗彦波, 等
顶空-固相微萃取-气相色谱/质谱分析电子烟烟液中的挥发性成分.....	杨继, 段沅杏, 赵伟, 等
高效液相色谱法测定卷烟滤嘴中截留的主要酚类化合物.....	胡念念, 杜文, 戴云辉
卷烟纸特性参数对烟气中重金属迁移率的影响.....	朱凤鹏, 李雪, 罗彦波, 等
不同干燥方式下叶丝孔隙结构的变化特征.....	许冰洋, 朱文魁, 潘广乐, 等
基于叶丝干燥速率特性的分组干燥研究.....	孙觅, 李春光, 宋伟民, 等
基于料液施加效果的加料工序关键工艺参数优化.....	刘泽, 何邦华, 陈林, 等
新型超高速包装机铝箔纸烟包推手装置建模与运动特性研究.....	胡波, 周长江, 任子文
多元统计控制图在烟支卷制品质量控制中的应用.....	王坤, 堵劲松, 舒芳誉, 等
垂直倾斜切片机切片厚度控制系统的优化设计.....	陈秋荣, 郭剑华