

NtC3H 基因对烟草类黄酮及绿原酸合成的影响

李 洋¹, 唐雪冰², 李晓峰², 李 明¹, 储昭辉¹, 丁新华^{1*}

(1.作物生物学国家重点实验室, 山东省农业微生物重点实验室, 山东农业大学, 山东 泰安 271018; 2.黑龙江烟草工业有限责任公司海林卷烟厂, 黑龙江 海林 157100)

摘 要: 为验证 *NtC3H* 是否参与烟草中类黄酮和绿原酸等次生代谢物质的合成, 构建了 pCXS::*NtC3H* 超量表达载体, 利用农杆菌介导的叶盘转化法将 *NtC3H* 基因转入野生型烟草三生烟, 并通过 HPLC 检测转基因烟草中绿原酸以及芦丁、山奈酚芸香苷等类黄酮的含量变化。结果显示, 与野生型三生烟草相比, 转基因烟草叶片中绿原酸及芦丁的含量最高, 分别提高了 3.6 倍和 6.1 倍, 山奈酚芸香苷含量提高了 24.6 倍。研究结果证实了 *NtC3H* 基因参与烟草中类黄酮和绿原酸等次生代谢物质的合成。

关键词: 烟草; *NtC3H* 基因; 绿原酸; 类黄酮

中图分类号: S572.03

文章编号: 1007-5119 (2016) 01-0008-06

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2016.01.002

The Influence of *NtC3H* on the Synthesis of Flavonoids and Chlorogenic Acid in Tobacco

LI Yang¹, TANG Xuebing², LI Xiaofeng², LI Ming¹, CHU Zhaohui¹, DING Xinhua^{1*}

(1. State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Provincial Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Heilongjiang Tobacco Industry Co., Ltd., Hailin Cigarette Factory, Hailin, Heilongjiang 157100, China)

Abstract: To test whether *NtC3H* participates in the biosynthesis of flavonoids, and chlorogenic acid (CGA) in tobacco and increases the contents of these secondary metabolites, we constructed the over-expression vector pCXS::*NtC3H* and introduced it into *Nicotiana tabacum* var. samsun via *Agrobacterium*-mediated transformation. The concentrations of the different secondary metabolites including CGA, rutin, and kaempferol rutinoid in leaves of wild-type and transgenic lines were determined by HPLC. Compared to wild-type samsun tobacco, in transgenic tobacco the concentrations of CGA were increased 3.6-fold, rutin and kaempferol rutinoid were increased 6.1- and 24.6-fold respectively. These results suggested that *NtC3H* positively regulated the synthesis of flavonoids and CGA in tobacco.

Keywords: tobacco; *NtC3H*; chlorogenic acid; flavonoids

细胞色素 P450 (cytochrome, CYP450) 是一类存在一个由半胱氨酸和含铁血红素组成的活性中心的酶类家族^[1-2]。对-香豆酸 3-羟化酶 (p-coumarate 3-hydroxylase, C3H) 属于细胞色素 P450 家族, 催化对-香豆酰莽草酸/奎宁酸到咖啡酰莽草酸/奎宁酸 C3 位置的羟基化反应, 决定木质素单体的碳源流向, 并控制植物生长过程中木质素不

同单体的组成^[3-5]。超量表达烟草 *NtC3H* 基因对烟草中绿原酸及芦丁、山奈酚芸香苷等次生代谢物质积累的影响, 目前鲜有报道。

次生代谢物质在植物对环境胁迫和病虫害的防御过程中起到重要作用^[6-8]。此外, 植物次生代谢物质对人类抗氧化、延缓衰老、抗击癌症以及预防心脑血管疾病等方面也存在重要作用^[9-11]。分

基金项目: 国家高技术研究发展计划“富含类黄酮及咖啡酰奎宁酸番茄品种的培育”(863, 2010AA10Z103)

作者简介: 李 洋 (1988-), 女, 博士研究生, 研究方向为植物次生代谢调控。E-mail: younuowanwan@126.com

*通信作者, E-mail: xinhuading@hotmail.com

收稿日期: 2015-08-31

修回日期: 2015-10-18

析烟草中 *NtC3H* 基因超量表达对烟草次生代谢物含量的影响, 是研究烟草次生代谢合成机制的有效方式, 同时也可作为提高烟草叶片中营养物质含量及烟草抗逆性的研究基础。本研究对烟草 *NtC3H* 基因在烟草次生代谢途径中的作用做了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

烟草品种三生烟 (*Nicotiana tabacum* cv. samsun) 及其转基因烟草 T_0 和 T_1 代均在培养室进行, 培养室条件如下: 培养温度 25 °C; 光暗周期 16 h/8 h; 相对湿度 (70±10)%。待烟草植株生长至 8 叶期, 取中部叶片进行检测。

试验用菌株: 大肠杆菌 *Escherichia coli* DH5a, 农杆菌 LBA4404, 以及含有 35S 启动子的真核超量表达载体 pCXSXN 均由本实验室保存提供。DNA 聚合酶 LAMP-Taq、反转录试剂及试剂盒购自康为生物公司, DNA 凝胶回收试剂盒购自 OMEGA Biotek 公司, 限制性内切酶 *Xcm I* 和 T4 DNA 连接酶等均购自 NEB 公司。引物合成由上海生工生物工程有限公司完成, DNA 测序由华大基因科技股份有限公司完成。

1.2 方法

1.2.1 *NtC3H* 的克隆 按照 Trizol (Invitrogen) 说明书中描述方法提取烟草叶片总 RNA, 1.5 μg 上述总 RNA 用 DNaseI (NEB, 美国) 37 °C 处理 15 min, 75 °C 放置 10 min, 去除基因组 DNA 后以其为模板进行第一链 *NtC3H* cDNA 的合成, 反应条件如下: 在上述除去基因组的 RNA 中加入 1.5 μL oligo (dT) 15 寡聚引物, 70 °C 反应 10 min 后冰上急速冷却 2 min。加入 5×M-MLV Buffer, 1.5 μL dNTP (10 μM), 0.5 μL 反转录酶 M-MLV (Invitrogen, USA), 最后加入 DEPC 水补充至 20 μL。42 °C 条件下反应时间为 1 h, 70 °C 处理 15 min 得到 cDNA 第一链产物。以上述反应得到的 cDNA 为模板, 根据 NCBI^[12] 上烟草 *NtC3H* 基因

序列 (GeneBank DQ350326) 和 EST 序列特征, 设计 *NtC3H* 基因扩增引物 *NtC3HF1*: 5'-ATGTACTCTCATAGGTCAAAAAGT-3' 和 *NtC3HR1*: 5'-TTACATATCCACTGGCACAC-3', 选取高保真 DNA 聚合酶 LAMP (康为, 北京) 对目的基因进行扩增, 扩增反应体系如下: 20~50 ng 模板, 10×PCR 缓冲液, 4 μL dNTPs (2.5 mM), 1 μL 引物 (10 μM), 1 U DNA 聚合酶, 最后加入灭菌双蒸水补充至 50 μL。PCR 具体反应条件如下: 94 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 30 s, 58 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 90 s (30~60 s/kb 速度) 循环数 35, 72 °C 延伸 10 min。

1.2.2 *NtC3H* 表达载体的构建 通过限制性内切酶 *Xcm I* (NEB, 美国) 对超量表达载体 pCXSXN 进行酶切, 对酶切后载体进行酶的灭活和纯化。将通过高保真聚合酶扩增到的 *NtC3H* 基因片段连接到纯化后的表达载体上, 形成烟草超量表达转化载体 pCXSXN::*NtC3H* 转入大肠杆菌 DH5a, 挑白斑扩繁后用菌液 PCR 的方法进行初筛, 挑选阳性克隆送出测序。经验证测序结果与 NCBI 上烟草 C3H 基因序列 (GeneBank DQ350326) 一致后, 转化农杆菌 LBA4404。

1.2.3 农杆菌介导的烟草转化 将已构建好的超量表达载体 pCXSXN::*NtC3H* 通过农杆菌 (LBA4404) 介导的叶盘转化法^[13], 转入受体材料三生烟草的叶片。待转基因烟草根系在生根培养基中发育良好后, 移栽到土壤中。采用 CTAB^[14] 法提取转基因和非转基因植株叶片基因组 DNA, 以 35S 启动子内部序列设计的引物 35SF: 5'-ACGCACAATCCCACTATCCTT-3' 和基因序列内部设计的引物 *NtC3HR1*: 5'-TTACATATCCACTGGCACAC-3' 组合进行 PCR 阳性检测。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行分析, 扩增出 1500 bp 左右片段, 为阳性植株。

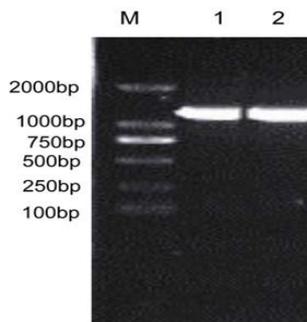
1.2.4 类黄酮提取和 HPLC 测定 取转基因及野生型烟草叶片用液氮研磨至粉末状, 各取 0.3 g, 3 mL 100% 色谱甲醇-20 °C 提取 2 h, 每 15 分钟振

荡 1 次。对提取物进行 4 °C、10000 rpm 离心 2 min, 上清经 0.22 μm 微孔滤膜过滤至样品瓶, 取 10 μL 滤液用于 HPLC 分析, 按照 Li^[15]等设置 HPLC 条件。标准品为绿原酸 (购自 Sigma), 芦丁 (购自 Sigma), 山奈酚芸香苷 (购自 Extrasynthese)。

2 结果

2.1 *NtC3H* 基因的克隆和表达载体的构建

按照 NCBI 中提供的三生烟草中 *NtC3H* (GeneBank DQ350326) 已知序列设计引物, 以三生烟草叶片 cDNA 为模板, 通过高保真 DNA 聚合酶 PCR 扩增获得长为 1562 bp 的清晰目标条带 (图 1), 对获得片段进行切胶回收。将 XcmI 酶切后的 pCXSN 载体与切胶回收后片段相连接, 转入大肠杆菌 DH5α 挑白斑扩增繁殖过夜后用菌液 PCR 的方法进行初筛, 并挑选 3 个阳性克隆提取质粒, 通过载体上启动子引物 35SF 和基因扩增引物 *NtC3HR1* 进行 PCR 阳性验证 (图 2), 将验证成功的阳性质粒送出测序。所获测序结果与目标序列比对, 二者序列比对一致, 证明成功克隆到三生烟草中 *NtC3H* 的完整基因序列。



注: M: DL2000 标准; 1-2: *NtC3H* 扩增产物。

图 1 *NtC3H* 扩增电泳图

Fig. 1 Cloning electrophoresis pattern of *NtC3H*

2.2 转 *NtC3H* 基因烟草的获得

将测序成功的大肠杆菌质粒, 转入农杆菌 LAB4404。通过农杆菌介导的叶盘转化法^[13], 转入受体材料三生烟草的叶片获得转 *NtC3H* 基因烟

草植株, 进一步通过 PCR 的方法验证阳性转基因烟草植株。共获得 12 棵转基因材料, 其中有 9 棵扩增到了目标基因序列, 确认为阳性转基因植株, 转化率为 75% (图 3)。

2.3 转基因烟草叶片类黄酮和绿原酸含量检测

待转基因阳性及野生型烟草长到 8 叶期, 参照 Li^[15]等的方法用 HPLC 检测了 3 种物质的含量。结果显示, 转 *NtC3H* 基因的烟草叶片中绿原酸、芦丁及山奈酚芸香苷的含量都有较为明显的提高 (图 4, 表 1)。

与野生型相比, 转 *NtC3H* 基因的烟草叶片中绿原酸的含量提高了 0.3~3.6 倍, 最高含量为 1167.1 μg/g (鲜重); 芦丁的含量提高了 0.7~6.1 倍, 最高含量为 177.3 μg/g (鲜重); 山奈酚芸香苷含量提高了 1.2~24.6 倍, 最高含量达到了 302.6 μg/g (鲜重), 均远远高于野生型烟草 (图 4, 表 1)。



注: M: DL2000 标准; 1-3: 阳性质粒; 4-5: 阴性质粒; 6: 空白对照。

图 2 *NtC3H* 质粒检测图

Fig. 2 *NtC3H* verification by plasmid PCR



注: M: DL2000 标准; 1-3, 5-9, 11: *NtC3HT*₀ 代转基因阳性植株; 4, 10, 12: 阴性转基因植株; 13: 野生型烟草; 14: 质粒阳性对照。

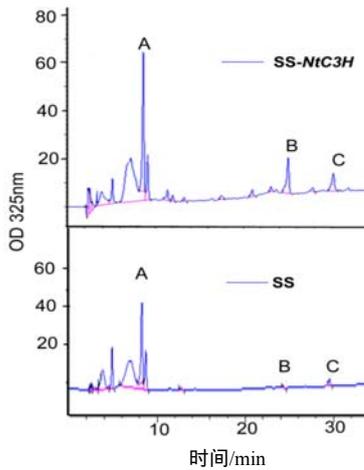
图 3 *T*₀ 代 *NtC3H* 转基因烟草植株阳性检测

Fig. 3 Positive detection of transgenic tobacco in *T*₀ generation

表 1 转基因烟草 T₀ 代叶片中次生代谢物质含量

Table 1 Quantification of main secondary metabolites in the T₀ generation of *NtC3H*-expressing tobacco and wild-type (SS) leaves

样品编号	绿原酸(μg·g ⁻¹ 鲜重)	上调倍数	芦丁(μg·g ⁻¹ 鲜重)	上调倍数	山奈酚芸香苷(μg·g ⁻¹ 鲜重)	上调倍数
SS	251.2	-	24.8	-	11.8	-
1	1167.1	4.6	173	7.0	55.9	4.73
2	854.1	3.4	177.3	7.1	302.6	25.6
3	645.6	2.6	84.5	3.4	86.12	7.3
5	432.9	1.7	115.2	4.6	25.9	2.2
6	481.4	1.9	60.4	2.4	124	10.5
7	366.7	1.5	68.5	2.8	41.2	3.5
8	656.3	2.6	46.4	1.9	165.8	14.1
9	540.3	2.2	53.6	2.2	76.5	6.5
11	318.1	1.3	41.5	1.7	34.8	2.9



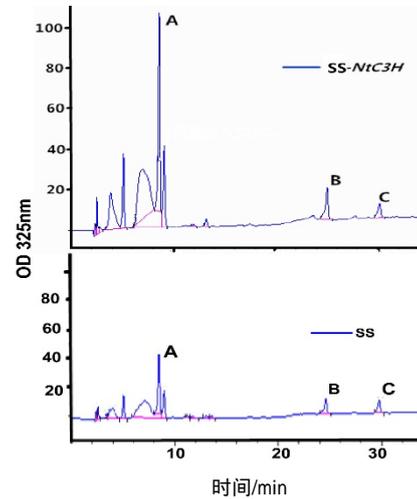
注：A：绿原酸；B：芦丁；C：山奈酚芸香苷。

图 4 T₀ 代转基因烟草与野生型烟草叶片中次生代谢物质含量 HPLC 检测

Fig. 4 HPLC analysis of methanol extracts from leaves of wild-type and *NtC3H*-expressing T₀ generation plants

在 PCR 检测阳性的植株中选择 T₀ 代 3 个株系，编号为 (1, 2 和 5)，进行 T₁ 代阳性检测，并对阳性植株叶片混合后进行 HPLC 检测，测定上述 3 种物质含量。转基因烟草 T₁ 代植株绿原酸及

山奈酚芸香苷含量与 T₀ 代基本一致，芦丁含量略高于 T₀ 代，说明 *NtC3H* 转基因烟草高含类黄酮及绿原酸等次生代谢物质的优势可以稳定遗传 (图 5，表 2)。



注：A：绿原酸；B：芦丁；C：山奈酚芸香苷。

图 5 转基因烟草 T₁ 叶片中次生代谢物质含量

Fig. 5 HPLC analysis secondary metabolites contents of *NtC3H* transgenic tobacco leaves in T₁ generation and control

表 2 T₁ 代转基因烟草叶片中次生代谢物质含量

Table 2 Quantification of main secondary metabolites in the T₁ generation of *NtC3H*-expressing tobacco and wild-type (SS) leaves

样品编号	绿原酸(μg·g ⁻¹ 鲜重)	上调倍数	芦丁(μg·g ⁻¹ 鲜重)	上调倍数	山奈酚芸香苷(μg·g ⁻¹ 鲜重)	上调倍数
SS	235.2±0.2	-	12.4±1.2	-	12±0.5	-
1	971.7±2.3	4.1	153.4±0.8	12.4	46.8±3.2	3.9
2	669.3±5.7	2.8	195.2±6.8	15.7	350.7±1.8	29.2
5	456.5±0.2	1.9	90.4±1.5	7.3	31.8±0.3	2.6

3 讨 论

对-香豆酸 3-羟化酶 (C3H) 属于细胞色素 P450 单氧化酶，催化苯丙烷苯环 C3 位置的羟基化反应，决定了木质素代谢过程中 H 单体向 G/S 单体转化的碳源流向，近年来得到广泛验证^[3-5]。在烟草植株中，通过超量表达载体将烟草自身

NtC3H 基因进行超量表达，通过分析烟草中 3 种次生代谢物质含量发现：转基因烟草中绿原酸，芦丁及山奈酚芸香苷含量均提高数倍，这种含量的提高在后代中稳定遗传。这种变化很可能是由于 C3H 在次生代谢途径中起到的作用不仅仅是调节木质素的合成过程，也同时对绿原酸，芦丁及

山奈酚芸香苷所在的合成途径中其他相关酶的表达产生了影响^[16],促进其在烟草植株体内的累积。

已经证实,在次生代谢物质中具有代表性的类黄酮类物质在植物对环境胁迫、昆虫及病原微生物等的防御过程中起到重要作用^[6-8]。另外科学家们也已经证实,长期服食绿原酸以及芦丁等次生代谢物质对人类的健康非常有益,可以降低许多疾病发生的概率,如心脑血管疾病,癌症等^[17]。另外次生代谢物质也提供丰富的香料及工业原料。在烟草中,绿原酸、芦丁及山奈酚芸香苷均是主要的酚类物质,经过燃吸均会裂解产生挥发性物质从而对烟气香味产生直接影响^[18-20]。

野生烟草中3种主要的次生代谢物质含量均不高,*NtC3H*作为烟草中自身含有的一种羟化酶,在烟草中超量表达后,上述物质均有了明显的提高,这既可以帮助我们提取丰量的上述次生代谢物质,也可以帮助提高烟草对多种虫害,病害等逆境的抗性,并提高烟气香味对香烟品质进行改良。

4 结 论

本研究通过超量表达烟草的*NtC3H*基因,获取多株转基因阳性植株,并分析了 T_0 及 T_1 代转基因烟草中芦丁、山奈酚芸香苷和绿原酸等次生代谢物质含量的变化。结果显示,转基因烟草叶片中绿原酸的含量最高提高了3.6倍,最高含量达到1167.1 $\mu\text{g/g}$ (鲜重);芦丁的含量最高提高了6.1倍,最高含量达到177.3 $\mu\text{g/g}$ (鲜重);山奈酚芸香苷含量最高提高了24.6倍,最高含量达到了302.6 $\mu\text{g/g}$ (鲜重);并且这种优势可在后代中稳定遗传。

本研究为深入了解*NtC3H*在多个不同代谢途径中的作用和功能提供了研究基础。与此同时,提高烟草本身次生代谢物质的研究有限,通过对次生代谢物质合成基因的研究有助于了解次生代谢各个途径之间的关联性及其合成机理,并能够在生产实际中提高烟草对多种逆境的抗性,同时为

提高烟气品质、减轻吸烟对健康的负面影响提供了理论支持。

参考文献

- [1] Liu X, Deng Z, Gao S, et al. A new gene coding for p-coumarate 3-hydroxylase from *Ginkgo biloba*[J]. *Russ J Plant Physiol*, 2008, 55(1): 82-92.
- [2] Franke R, Hemm M R, Denault J W, et al. Changes in secondary metabolism and deposition of an unusual lignin in the ref8 mutant of *Arabidopsis*[J]. *Plant J*, 2002, 30(1): 47-59.
- [3] Abdulrazzak N, Pollet B, Ehlting J, et al. A coumaroyl-ester-3-hydroxylase insertion mutant reveals the existence of nonredundant meta-hydroxylation pathways and essential roles for phenolic precursors in cell expansion and plant growth[J]. *Plant Physiol*, 2006, 140(1): 30-48.
- [4] Ralph J, Akiyama T, Kim H, et al. Effects of coumarate 3-hydroxylase down-regulation on lignin structure[J]. *J of Bio Chem*, 2006, 281(13): 8843-8853.
- [5] Reddy M S, Chen F, Shadle G, et al. Targeted down-regulation of cytochrome P450 enzymes for forage quality improvement in alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(46): 16573-16578.
- [6] Diaz Napal G N, Carpinella M C, Palacios S M. Antifeedant activity of ethanolic extract from *Flourensia oolepis* and isolation of pinocembrin as its active principle compound[J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100(14): 3669-3673.
- [7] Amil-Ruiz F, Blanco-Portales R, Muñoz-Blanco J, et al. The strawberry plant defense mechanism: a molecular review[J]. *Plant Cell Physiol*, 2011, 52(11): 1873-1903.
- [8] Izaguirre M M, Mazza C A, Svatos A, et al. Solar ultraviolet-B radiation and insect herbivory trigger partially overlapping phenolic responses in *Nicotiana attenuata* and *Nicotiana longiflora*[J]. *Ann Bot*, 2007, 99(1): 103-109.
- [9] Hannum S M. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2004, 44(1): 1-17.
- [10] Soobrattee M A, Baharun T, Aruoma O I. Chemopreventive actions of polyphenolic compounds in cancer[J]. *Biofactors*, 2006, 27(1-4): 19-35.
- [11] Hertog M G, Feskens E J, Hollman P C, et al. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study[J]. *Lancet*, 1993, 342(8878): 1007-1011.
- [12] 丁安明, 陈雅琼, Zahid Hussain, 等. 烟草 GA 代谢相关基因 *ga1* 和 *ga2* 的克隆和表达分析[J]. *中国烟草科学*, 2014, 35(12): 102-107.
- [13] 李晓薇, 张艳, 赵旭, 等. 大豆 GmMYB12B2 植物表达载体的构建及转化烟草的研究[J]. *中国农学通*

- 报, 2011, 287(12): 91-95.
- [14] 杜希华, 陆海, 高述民, 等. 文冠果花药总 RNA 提取方法研究[J]. 北京林业大学学报, 2003, 25(1): 10-13
- [15] Li Y, Chen M, Wang S, et al. AtMYB11 regulates caffeoyl quinic acid and flavonol synthesis in tomato and tobacco[J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2015, 122: 309-319.
- [16] Lister C E, Lancaster J E, Walker J R. Phenylalanine ammonialyase (PAL) activity and its relationship to anthocyanin and flavonoid levels in New Zealand-grown apple cultivars[J]. J Am Soc Hortic Sci, 1996, 121: 281-285.
- [17] Ackland M L, van de Waarsengurg S, Jones R. Synergistic antiproliferative action of the flavonols quercetin and kaempferol in cultured human cancer cell lines[J]. In Vivo, 2005, 19: 69-76.
- [18] 王霞, 杨铁钊, 殷全玉, 等. 影响烟草香味的主要次生代谢途径及其研究进展[J]. 中国烟草科学, 2008, 29(1): 47-50.
- [19] 杨铁钊, 李钦奎, 李伟, 等. 植物次生与烟草香味物质[J]. 中国烟草科学, 2005, 26(4): 23-26.
- [20] 牛维环, 谢小东, 程廷才, 等. 植物类萜代谢及其在烟草中的研究进展[J]. 中国烟草科学, 2010, 31(5): 84-89.

《中国烟草学报》2016 年第 1 期目次

烟草与烟气化学

- 卷烟主流烟气中相关成分测量不确定度评定的研究.....王 律, 陈贤飞, 王 瑾, 等
- 基于 SOFM 网络的卷烟感官质量聚类模式分析邵惠芳, 赵昕宇, 许自成, 等
- 多分类器集成系统在卷烟感官评估中的应用石子健, 汤建国, 张忠良, 等

农艺与调制

- 清香型产区 5 个烤烟品种适应性分析.....吴兴富, 肖炳光, 巫升鑫, 等
- 打顶后养分供应水平和采收方式对烤烟钾素积累分配的影响.....邱 尧, 周冀衡, 黄助理, 等
- 土壤重金属处理对烟草中 As、Cd、Hg 和 Pb 的累积与分布的影响.....魏益华, 何俊海, 冯小虎, 等
- 烟草亲和性解钾 PGPR 菌株筛选及其促生效果研究.....龚文秀, 曹媛媛, 倪海婷, 等
- 复合有机肥对烤烟淀粉生物合成的影响.....杨胜男, 张洪映, 连文力, 等
- 钙镁磷肥对青枯病发病烟株根际土壤微生物区系的影响.....李小龙, 李红丽, 曾 强, 等

植物保护

- 基于遥感技术的烟草花叶病监测研究.....徐冬云, 李新举, 杨永花, 等

生物技术

- 烟草硝酸盐转运蛋白基因 *NtNRT2.4* 的克隆及表达分析.....黄化刚, 申 燕, 王卫峰, 等
- 烟草野火病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* *yuexi-1* 信号肽预测及分析.....王铁霖, 李 晶, 杨玉文, 等
- 应用 TaqMan 探针实时荧光定量 PCR 技术检测烟草靶斑病菌 *Rhizoctonia solani* AG-3 方法的建立
.....赵艳琴, 吴元华, 赵秀香, 等

吸烟与健康

- 吸烟对青年吸烟者血浆微小 RNA 表达谱影响的研究.....施 冰, 张天阳, 刘兴余, 等

经济与管理

- 基于卷烟零售户销售潜力分值(G 值)的新产品投放策略研究.....许 泓, 刘文倩
- 卷烟销售市场景气指数的设计及其应用研究——以汉中市为例.....何文勤, 王 猛, 黄 崑, 等
- 河南烤烟全要素生产率实证分析——基于 DEA-Malmquist 指数法苏新宏, 马 聪, 侯 鹏, 等

综述

- 电子烟气溶胶的研究进展.....蔡君兰, 陈 黎, 刘绍锋, 等