

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201701019

引文格式: 赵艳玲, 韩瑶, 靳玉蕾. 过表达 *EuCuZnSOD* 提高巨尾桉的耐寒性研究 [J]. 广西植物, 2018, 38(1): 101-108
ZHAO YL, HAN Y, JIN YL. Over-expression of cytosolic copper/zinc superoxide dismutase gene and increase cold-tolerance in *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla* [J]. *Guihaia*, 2018, 38(1): 101-108

过表达 *EuCuZnSOD* 提高巨尾桉的耐寒性研究

赵艳玲, 韩瑶, 靳玉蕾

(华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 铜锌超氧化物歧化酶(CuZnSOD)是一种清除超氧阴离子自由基的金属酶,与多种抗逆性相关。该研究利用 CaMV35S 启动子融合巨尾桉 *EuCuZnSOD1* 基因通过根癌农杆菌介导的叶盘转化法导入巨尾桉中,经卡那霉素初步筛选和 PCR 鉴定,得到 10 株转基因阳性植株。结果表明:通过-13.1 °C 暗处理 5 h 的抗寒性实验,发现 40 和 41 号植株在低温下无叶片萎蔫现象,组培室培养 100 d 后全株存活无白化叶片,说明这两株转基因巨尾桉的抗低温和冻害后恢复能力较强。在 4 °C 低温胁迫下跟踪监测转基因温室苗的 SOD 酶活性发现,与对照相比转基因植株的 SOD 酶比活力无规律性且变化不大,但是相同条件下实时定量 PCR 检测结果表明抗寒性较强的 40 和 41 号植株在常温下 *EuCuZnSOD1* 的表达量较对照增加了约 9 倍,4 °C 处理 36 h 后 *EuCuZnSOD1* 的表达量相对对照植株分别增加了 16 倍和 36 倍,说明 *EuCuZnSOD1* 在低温胁迫下的表达量增加提高了巨尾桉的耐寒性。分析转基因组培苗全株的硫酸木质素含量,表明 *EuCuZnSOD1* 高表达不影响甚至降低了巨尾桉的木质素含量,40 号植株的木质素含量与对照相同,而 41 号整株植株的木质素含量相对对照降低了 56%,其他检测转基因植株的木质素含量均有不同程度的降低。该研究结果表明巨尾桉中大量表达 *EuCuZnSOD1* 基因可以提高巨尾桉的抗寒能力以及寒害后的恢复能力,不影响甚至可能是负调控了转基因巨尾桉的木质素生物合成。

关键词: 巨尾桉, 铜锌超氧化物歧化酶, 转基因, 抗寒性, 硫酸木质素

中图分类号: Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2018)01-0101-08

Over-expression of cytosolic copper/zinc superoxide dismutase gene and increase cold-tolerance in *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla*

ZHAO Yanling, HAN Yao, JIN Yulei

(College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, Fujian, China)

Abstract: Copper/zinc superoxide dismutases are important antioxidant enzymes to guard cells against superoxide toxicity. The over-expression of *CuZnSOD* can improve the resistance and recovery ability of plants to abiotic stresses

收稿日期: 2017-04-19

基金项目: 国家自然科学基金 (31300497) [Supported by the National Nature Science Foundation of China (31300497)].

作者简介: 赵艳玲(1978-),女,山东淄博人,博士,助理研究员,主要从事树木分子生物学研究,(E-mail)zhaoyl@hqu.edu.cn.

such as salt, drought, cold and high temperature stress. The plant genome encodes three types of *CuZnSOD*, the *CuZnSOD1* in cytoplasm, the *CuZnSOD2* in chloroplast and the *CuZnSOD3* in peroxisome or extracellular. The cytosolic *EuCuZnSOD1* gene was cloned from *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla* (GenBank Accession Number: JX138573) and the biological function was verified by prokaryotic expression system. The fusion vector of sense *EuCuZnSOD1* gene derived by CaMV35S promoter was constructed and transformed to *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla* by Agrobacterium. Using Kanamycin selection and PCR analysis, ten transgenic eucalyptus lines were obtained. Compared with the control plants the tissue culture transgenic eucalyptus No. 40 and No. 41 could be well tolerant in $-13.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 5 h and recovery without obvious damage. There was no distinct increase in SOD enzyme activity in transgenic plant paralleled with wild plant under room temperature and $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 48 h. However, the real-time PCR analysis showed that the expression of *EuCuZnSOD1* was raised to about nine times higher than wild line under room temperature. After $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 36 h, the expression of *EuCuZnSOD1* in No. 40 and No. 41 line was respectively increased about 16 and 36 times higher than the wild plant and then down to the normal level at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 48 h. The data indicated that the increased expression of *EuCuZnSOD1* improves the cold tolerance of Eucalyptus. The klason lignin content of transgenic Eucalyptus was reduced especially the No. 41 Eucalyptus was decreased to 56% of the control plant except for the No. 40 plant was no significantly different from the control plant. In conclusion, over-expression of the cytosolic *EuCuZnSOD1* in *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla* could enhance the cold-tolerance and improve the recovery ability.

Key words: *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla*, copper/zinc-superoxide dismutases, transgenesis, cold-tolerance, klason lignin

桉树是世界三大用材树种之一,其种植面积已经占世界人工林面积的三分之一,是一种极具价值的经济林。但是,低温、其它环境胁迫、人工除草等高成本因素严重影响了桉树人工林的发展,而选育良种、培育新品种则是解决这一问题的有效途径。基因工程育种具有高效性和目标性强等特点,可以加速优质、高抗桉树新品种的选育进程。目前,已经有澳大利亚、日本、巴西和中国等获得了转基因桉树。

目前,桉树抗寒分子机理研究较少,主要集中在抗寒转录因子 CBF 的功能研究,首先,法国图卢兹大学的 Teulieres 课题组克隆了巨桉的 CBF 基因 (Kayal et al, 2006),研究了 CBF 基因与抗寒性的关系 (Navarro et al, 2009),将巨桉 CBF1 基因转入杂交桉树中发现转基因桉树除了抗寒能力增强之外,还表现出生长缓慢、保水能力增强等常青阔叶树所具备的生理特点 (Navarro et al, 2011);随后分析了 AP2/ERF 基因家族的功能,发现 DREB1/CBF 与桉树的寒害逆境相关 (Cao et al, 2015),后通过高通量的 qPCR 技术研究了巨桉的 CBF 和 DREB2 与桉树冷、热和干旱逆境的关系,发现 CBF

调节桉树的抗逆与生长 (Nguyen et al, 2017)。将巨桉的低温胁迫响应基因 *EgrCR* (徐凤华等, 2016) 转化拟南芥,提高了拟南芥的抗冻性,证明了与桉树的抗寒性相关。此外,还开展了低温胁迫下的尾巨桉和邓恩桉转录组学研究 (Liu et al, 2014) 和巨桉的茎在短时寒害下的蛋白质组学研究 (Leonardi et al, 2015)。

SOD 活性可作为筛选桉树抗寒性的一个生理指标,研究发现不同种类的桉树应对低温逆境时其 SOD 的活性变化差异明显 (刘友全等, 2000)。例如尾巨桉和邓恩桉对低温具有不同的响应特性,低温胁迫下 SOD 的活性均有升高,且耐寒的邓恩桉的 SOD 活性高于尾巨桉 (刘奕清, 2015)。综上所述,研究表明 SOD 的活性与桉树对低温胁迫的抵抗能力成正相关。

本实验室成功克隆了巨尾桉的 *EuCuZnSOD* 基因 (GenBank Accession Number: JX138573),通过原核表达,证明该基因具有生物学功能 (赵艳玲和周利建, 2015)。本研究通过基因工程手段获得过量表达 *EuCuZnSOD* 的巨尾桉转基因植株,研究超表达 *EuCuZnSOD* 与桉树抗寒能力的关系,为定

向培育耐低温桉树新品种提供直接的实验基础。

1 材料与方 法

1.1 材料

EuCuZnSOD 为本研究实验室克隆并保存 (GenBank Accession Number: JX138573)。巨尾桉无菌苗、pBI121 载体、JM109 菌株、农杆菌 LBA4404 为本实验室保存。PCR 体系、内切酶等均购自 Takara 公司,其他试剂购自上海生工。引物由厦门精聚公司合成。

1.2 方法

1.2.1 构建植物二元表达载体与农杆菌介导的叶盘法转基因桉树 pBI121 和 pMD-CSD 质粒 *Bam*H I/*Sac* I 双酶切,双酶切产物由 TaKaRa MiniBEST Agarose Gel DNA Extraction Kit 回收,T4 DNA ligase 连接片段,双酶切验证和测序检测阳性克隆载体。将 pBIEuCSD 转化根癌农杆菌 LBA4404 感受态细胞,参照(周利建和赵艳玲,2012)叶盘法转化巨尾桉,50 mg · L⁻¹ Cef,5 mg · L⁻¹ Kan,初步筛选转基因桉树。

1.2.2 转基因巨尾桉的 PCR 检测 CTAB 法提取转基因桉树基因组 DNA,引物 1:5'-ATGCTGAAGGC-CGTTGCCGTCC-3'; 引物 2: 5'-TTAGCCTTG-CAGACCAATAATAC-3' 进行 *EuCuZnSOD* 基因的 PCR 扩增。以 CaMV35s 启动子部分序列设计的引物进行二次验证,引物 3: 5'-CAGGTC-CCCAGATTAG CCTT-3',引物 4:5'-CGTGTCTCT-CCAAATGA-3',PCR 反应程序如下:预变性 94 °C,5 min;94 °C 变性 30 s,60 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 90 s,30 个循环;72 °C 延伸 10 min,琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 转基因巨尾桉的抗寒能力实验 将转基因组培苗-13.1 °C 冰箱暗处理,逆境处理 3.5 h 观察植株情况,直到 5 h,取出拍照后置于组培室进行恢复培养,3 d 和 100 d 后观察植株生长状况。

1.2.4 NBT 法检测 SOD 酶活性 SOD 酶活性测定方法参照赵艳玲和周利建(2015)。植物材料取盆栽转基因巨尾桉植株叶片,测定的条件分别是 25 °C、4 °C 恒温气候箱中培养 36 h 和 48 h。

1.2.5 实时定量 PCR 技术分析转基因植株 *EuCuZnSOD1* 表达量 巨尾桉叶片总 RNA 用 Takara 公司的 RNA 提取试剂盒,利用 Takara SYBR ExScript 试剂和罗氏 LightCycler 480 仪器,以桉树 4 个样本的 cDNA 为模板,内参基因为巨尾桉 18S rRNA (171 bp),引物设计分别为 EuCSDF: 5'-GGAAATGT-CACTGTTGGTGC-3'; EuCSDR: 5'-TCATCCGGAT-CAGCATGGAC-3'; Eu18SF: 5'-CGCGCTACACTGAT-GTATTC-3'; Eu18SR: 5'-GTACAAAGGGCAGGGACGTA-3',反应程序为预变性 95 °C,30 s;变性 95 °C,5 s;退火 60 °C,20 s,40 个循环,最后延伸 65 °C,15 s,每个反应包括 3 个重复。

1.2.6 硫酸木质素含量测定 取巨尾桉转基因组培苗全株做硫酸木质素含量测定,参照赵艳玲等(2012)的方法。

2 结果与分析

2.1 转 pBIEuCSD 巨尾桉植株的获得

pBIEuCSD 植物的二元表达载体质粒通过 *Bam*H I 和 *Sac* I 双酶切验证连接成功,农杆菌介导的叶盘法转基因巨尾桉,图 1 所示为整个转化过程的部分图片,芽分化在培养基中培养 60 d 后,不定芽从愈伤组织中分化(图 1:A),芽长至 2 cm 移至生根培养基中继续抗性筛选,抗 Kan 的转基因巨尾桉正常生长(图 1:B)并生根(图 1:C),经初步筛选共得到 46 株抗性植株。

2.2 PCR 检测 pBIEuCSD 转基因巨尾桉

对初步筛选所得到的 46 株转基因植株进行 PCR 检测。*EuCuZnSOD1* 克隆自巨尾桉,以该基因作为阳性指标检测到 31 株阳性植株,存在假阳性问题。以 CaMV35S 启动子上的部分序列为模版设计引物,对得到的 31 株检测阳性植株进行二次 PCR 验证,若为阳性植株应有约 900 bp 的目的片段。从图 2 可以看出,有 10 株转基因植株在 900 bp 左右有条带,通过双 PCR 验证,最终得到 pBIEuCSD 转基因巨尾桉阳性植株 10 棵。

2.3 pBIEuCSD 转基因巨尾桉抗寒性分析

通过不同的低温设置研究组培苗的最低耐受温度,经预实验得到-13.1 °C 暗处理 3.5 h 后普通

组培苗萎蔫现象严重甚至死亡。本实验将生长状况相同的转基因阳性和阴性巨尾桉放置在同一组培瓶中培养至生根,于 $-13.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 3.5 h,观察发现 36 和 47 号转基因植株有明显冻伤,停止低温处理,其余的转基因阳性植株无萎蔫现象,重新放回 $-13.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 5 h,结果发现 49、52、53、55、44 号转基因阳性植株在冻害后表现为茎尖萎蔫,组培室培养 72 h 后植株茎上部 1/3 处萎蔫。40、41 和 42 号巨尾桉冻害后植株无明显冻伤,组培室培养 72 h 后 40 号植株无萎蔫现象,41 和 42 号植株茎尖有所萎蔫,不换瓶培养 100 d 后,40 和 41 号巨尾桉全株成活,而 42 号植株底部叶片白化,重新发芽,如图 3 所示。

表 1 统计了冻害后转基因植株的恢复程度,经 $-13.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻害实验的植株光照培养 100 d 后,转基因阳性植株只有 47 号全株白化死亡,对照植株有 4 株完全死亡;底部叶片白化但重新发芽的转基因植株有 4 株,阴性对照有 7 株;有 5 株转基因植株完全没有白化现象,生长良好,但是完全存活的阴性植株为 0 株,说明 *EuCuZnSOD1* 基因转入巨尾桉后,确能增强植株的抗寒能力且低温处理后的复壮能力强。

2.4 pBIEuSOD 阳性转基因植株 SOD 酶活检测

参考刘奕清(2015)的方法,本研究在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 气候箱中对盆栽转基因巨尾桉植株低温胁迫处理,测定 SOD 酶活性。从图 4 结果可以看出,通过组培获得的盆栽苗的预试验发现在 48 h 的冷胁迫过程中,前 36 h 低温胁迫下 SOD 酶的比活力呈现出下降趋势,36 h 左右 SOD 酶比活力达到最低,之后开始升高。

常温环境下,转基因植株的 SOD 比活力最高的是 36 号植株,但是 36 号植株的抗冻能力较差。抗冻能力最强的 40 和 41 号植株常温下的 SOD 比活力和对照差异较小。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫下,巨尾桉抗冻能力较强的转基因植株 40 对低温胁迫较敏感,36 h 胁迫后 SOD 比活力相比室温下的比活力降低了 38%,48 h 比活力比 36 h 的上升了 2.1 倍,对照植株比活力分别是降低了 11% 和上升了 1.6 倍。从酶比活力的分析发现巨尾桉转基因植株的 SOD 酶活性与抗冻能力的关联性不强。

2.5 qPCR 分析转基因植株的 *EuCuZnSOD* 表达量

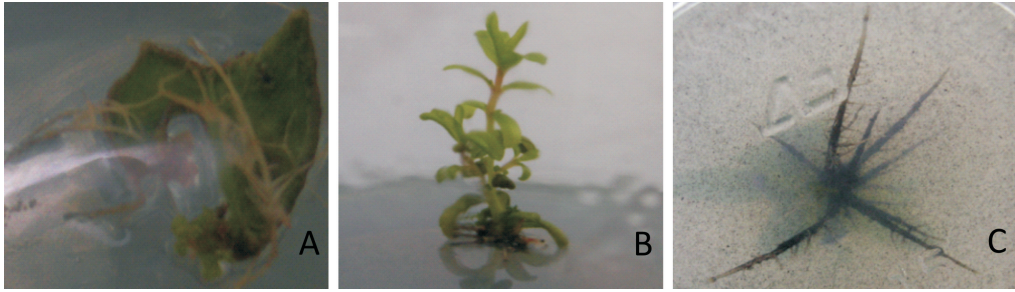
综合抗寒性实验和酶活性测定的实验结果,选取 4 株转基因巨尾桉进行实时定量 PCR 分析,包括酶活性最高但不耐冻的 36 号植株,最耐冻且酶活性对温度敏感的 40 和 41 号植株,酶活性较高且较耐冻的 52 号植株,以盆栽苗的叶片为研究对象,选择 18S RNA 作为内参基因对所有样品进行归一化处理,对不同样品之间的 *EuCuZnSOD* 基因表达量进行比较如图 5。常温下耐寒能力强的 40、41 和 52 号转基因巨尾桉的 *EuCuZnSOD* 表达量是对照植株的 9~10 倍,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫下 *EuCuZnSOD* 表达量具有先升高后降低的特点,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫 36 h 时抗冻能力较强的 40 和 41 号转基因植株 *EuCuZnSOD* 的表达量分别升高到对照的 16 倍和 36 倍,较高的 *EuCuZnSOD* 的表达有利于植株抵御冻害。

2.6 转基因植株的硫酸木质素含量

将转基因植株组培苗的全株,包括根,茎,叶一起磨粉,硫酸木质素的含量测定结果见图 6,转基因桉树的硫酸木质素含量除了 40 号和对照相比变化较小外,其它植株的木质素含量都降低了,其中 41 号转基因植株木质素含量比对照植株降低了 56%。

3 讨论与结论

桉树是重要的纸浆林木,在林业生产中有非常明显的区域性。目前,低温、盐碱、重金属等环境因素严重限制了桉树人工林的推广及发展。*CuZnSOD* 与植物的抗逆性有着密切关系。对 *CuZnSOD* 的转基因研究主要集中在耐盐、耐旱、耐储存、耐冻等能力的研究。研究发现克隆多抗花生的 *AhCuZnSOD* 基因,获得的转基因烟草的抗盐和抗旱能力明显提高(Negi et al, 2015)。小麦 *CuZnSOD* 基因 *TaSOD1.1* 和 *TaSOD1.2* 转化烟草,转基因植株抵御盐胁迫能力增强(张海娜等, 2008)。橡胶树中过表达细胞质 *CuZnSOD* 基因,获得耐旱的转基因橡胶树(Leclercq et al, 2012)。李子的胞质 *CuZnSOD* 和 *APX* 转入李子组培苗后,转基因李子的快繁能力增强(Faiza et al, 2013)。

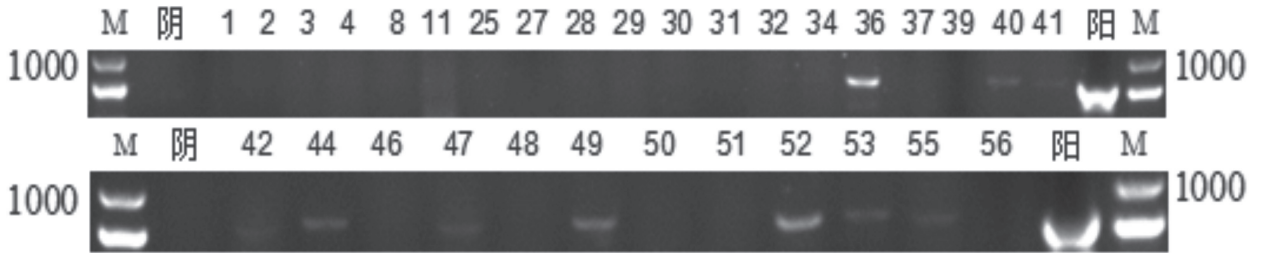


注：A. 桉树叶片分化不定芽；B. Kan 筛选不定芽；C. 巨尾桉不定芽正常生根。

Note: A. Differentiation of adventitious buds; B. Preliminary selection of Kan; C. Adventitious bud grow root.

图 1 农杆菌介导的叶盘转化法转基因巨尾桉生长图

Fig. 1 Growth situation of transformed *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla*

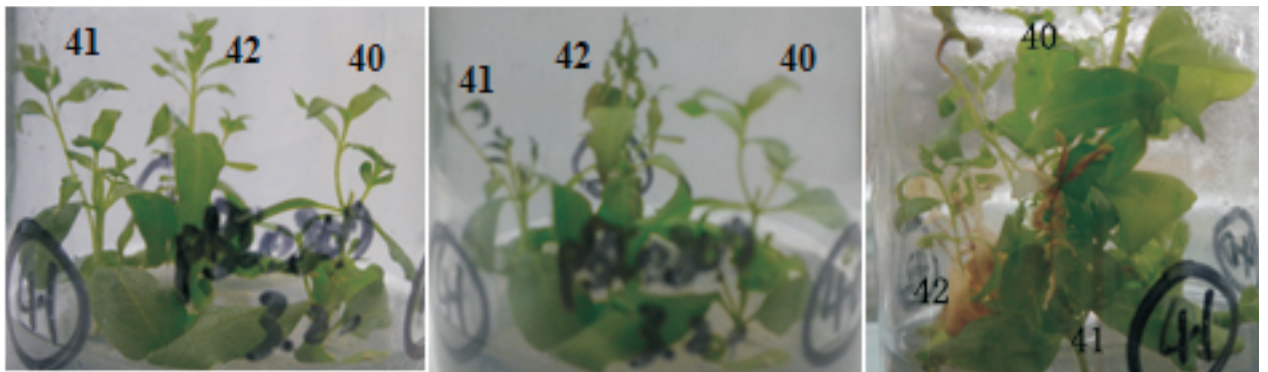


注：M. DL 2000 DNA Marker；阴. 野生植株；1-56. 转基因植株；阳. pBIEuCSD 质粒。

Note: M. DL 2000 DNA Marker; 阴. Wild plant; 1-56. Transgenic plants; 阳. Vector pBIEuCSD.

图 2 转基因植株 CaMV35S 启动子序列 PCR 检测图

Fig. 2 Detection of transgenic plants by PCR primer designed from CaMV35S promoter



注：A. $-13.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理后，B. 处理后 72 h，C. 处理后 100 d。

Note: A. $-13.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ treatment for 3.5 h; B. 72 h after treatment; C. 100 d after treatment.

图 3 $-13.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理 pBIEuCSD40、41、42 号转基因植株 5 h 观察图

Fig. 3 Influence of $-13.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 h treatment of pBIEuCSD 40, 41 and 42 transgenic plantlets

表 1 -13.1 °C 暗处理 pBIEuCSD 转基因植株
3.5、5 h 后 100 d 的存活情况

Table 1 Survival situation of pBIEuCSD transgenic plants 100 d after -13.1 °C treatment for 3.5 or 5 h

植株存活情况 Survival situation	转基因植株编号 Transgenic line	对照 CK
全株白化死亡 Dead	47	4
底部叶片白化,重新存活 Recovery	36,42,44,52	7
整株无白化叶片,全株活 Survival	40,41,49,53,55	—

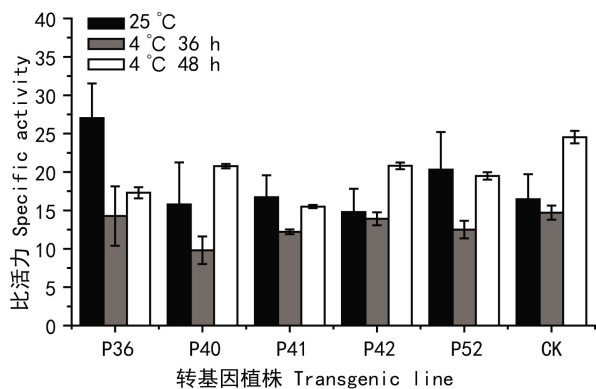


图 4 转基因植株 4 °C 低温胁迫下的 SOD 酶比活力
Fig. 4 SOD specific activity of transgenic seedlings under 4 °C treatment

CuZnSOD 基因和 *CAT1* 在木薯中过表达,木薯的采后生理恶化现象最少延迟 10 d (Xu et al, 2013)。实验证明,将叶绿体 *CuZnSOD* 和 *APX* 基因转入的甘薯具有较高的耐旱性且旱后恢复速度较快 (Lu et al, 2010),在盐胁迫下 *CuZnSOD* 相比对照植株表达量增加了 13.3 倍,可耐受 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl (Yan et al, 2016),耐寒能力和耐受 SO_2 的能力也有所增强 (Kim et al, 2015)。西伯利亚蓼铜伴侣蛋白基因 (*PsATX*) 和 *CuZnSOD* 共转化的烟草耐盐,且比转单价基因植株具有更强的耐 NaCl 能力 (马静等, 2015)。本文的研究目标是通过 *CuZnSOD* 的过表达提高巨尾桉的抗寒能力,同时 *CuZnSOD* 的过表达可能也会增强巨尾桉对其它逆境环境的

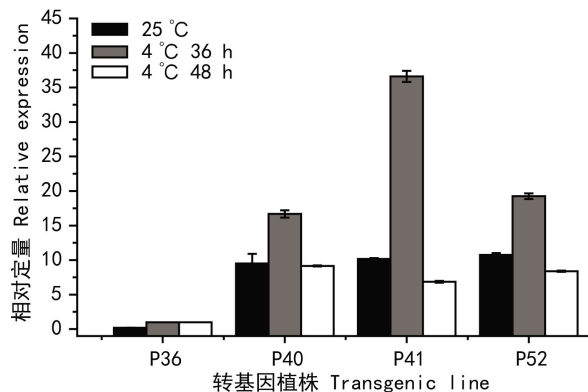


图 5 qPCR 分析转基因植株 *EuCuZnSOD* 表达量
Fig. 5 Quantity PCR analysis of *EuCuZnSOD* in transgenic seedlings

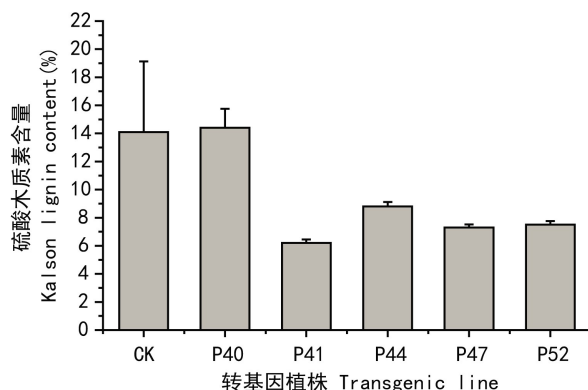


图 6 转基因植株硫酸木质素含量
Fig. 6 Kalsion lignin content of transgenic plant

耐受能力,这方面的工作需要进一步的实验确定。

通过实时定量 PCR 技术,可以研究 *CuZnSOD* 基因的表达量与低温生理响应的关系。qPCR 结果表明,虽然 36 号植株的 SOD 酶活性很高,但是 *CuZnSOD* 的表达量很低。抗寒能力较强的 40、41 和 52 号植株的 *CuZnSOD* 表达量较大,意味着 *CuZnSOD* 的过表达与转基因巨尾桉的抗寒能力正相关。转基因 40 和 41 号冻害后的恢复能力较强,而 36 和 52 号植株出现了寒害后白化并重生的现象,从 48 h 内的 qPCR 数据不能得出 *CuZnSOD* 表达量大与恢复能力有关,在组培苗-13.1 °C 冻害实

验后的观察数据中,72 h 的观察数据与最终的 100 d 的成活程度也是不同的,说明 *CuZnSOD* 的表达量与低温胁迫后的恢复能力可能需要更长时间的跟踪监测数据。

通过硫酸木质素含量的分析,发现过表达细胞质 *EuCuZnSOD* 基因没有导致木质素含量的升高,除了抗寒能力强的 40 号植株的木质素含量与对照差别较小外,其他转基因植株的木质素含量都降低了,尤其是 41 号巨尾桉的组培苗整株的硫酸木质素含量只有 6.2%,这与拟南芥(Gill et al, 2010)中大量表达 *CuZnSOD* 增加木质化的研究结果差异较大,具体原因还有待进一步的研究确定。通过对巨尾桉 *CuZnSOD* 功能的研究,筛选得到了抗寒且低木质素的转基因巨尾桉,获得既速生优质又多抗的桉树新品系,使桉树在冷凉的温带地区以及多种复杂逆境环境中的推广种植成为可能。

参考文献:

CAO PB, AZAR S, SAN CH, et al, 2015. Genome-wide analysis of the AP2/ERF family in *Eucalyptus grandis*: an intriguing over-representation of stress-responsive DREB1/CBF genes [J]. PLoS ONE, 10(4):e0121041.

FAIZE M, FAIZE L, PETRI C, et al, 2013. Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase enhance *in vitro* shoot multiplication in transgenic plum [J]. J Plant Physiol, 170(7): 625-632.

GILL T, SREENIVASULU Y, KUMAR S, et al, 2010. Over-expression of superoxide dismutase exhibits lignification of vascular structures in *Arabidopsis thaliana* [J]. J Plant Physiol, 167(9): 757-760.

KIM YH, LIM S, HAN SH, et al, 2015. Expression of both *CuZnSOD* and *APX* in chloroplasts enhances tolerance to sulfur dioxide in transgenic sweet potato plants [J]. C R Biol, 338(5): 307-313.

LECLERCQ J, MARTIN F, SANIER C, et al, 2012. Over-expression of a cytosolic isoform of the *HbCuZnSOD* gene in *Hevea brasiliensis* changes its response to a water deficit [J]. Plant Mol Biol, 80(3): 255-272.

LEONARDI GA, CARLOS NA, MAZZAFERA P, et al, 2015. *Eucalyptus urograndis* stem proteome is responsive to short-term cold stress [J]. Genet Mol Biol, 38(2): 191-198.

LIU YQ, LIU JL, PAN TL, 2000. Cold resistant of *Eucalyptus camaldulensis* with reference to growth study in Hunan [J]. J

Centr S For Univ, 20(3): 86-89. [刘友全,刘加林,潘天玲, 2000. 赤桉在湖南的抗寒与生长适应性 [J]. 中南林业学院学报,20(3): 86-89.]

LIU YQ, JIANG YS, LAN JB, et al, 2014. Comparative transcriptomic analysis of the response to cold acclimation in *Eucalyptus dunnii* [J]. PLoS ONE, 9(11):e113091.

LIU RQ, 2015. Physiological response characteristics and transcriptomic comparison of two Eucalyptus trees under low temperature stress [M]. Beijing: China Agricultural University:15-18 [刘奕清, 2015. 低温胁迫下两种桉树的生理响应特征及转录表达差异研究 [M]. 北京: 中国农业大学:15-18.]

LU YY, DENG XP, SANGSOO K, 2010. Over expression of Cu, Zn superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) and ascorbate peroxidase (APX) in transgenic sweet potato enhances tolerance and recovery from drought stress [J]. Afr J Biotechnol, 9(49): 8378-8391.

KAYAL WE, NAVARRO M, MARQUE G, et al, 2006. Expression profile of CBF-like transcriptional factor genes from Eucalyptus in response to cold [J]. J Exp Bot, 57(10): 2455-2469.

MA J, QU CP, XU ZR, et al, 2015. Salt tolerance of transgenic tobacco containing *PsATX* and *PsSOD* genes of *polYGONUM sibiricum* Laxm [J]. Bull Bot Res, 35(2): 208-217. [马静,曲春浦,许志茹,等, 2015. 西伯利亚蓼铜伴侣蛋白与铜锌超氧化物歧化酶基因共转化烟草的耐盐性分析 [J]. 植物研究, 35(2): 208-217.]

NAVARRO M, AYAX C, MARTINEZ Y, et al, 2011. Two *EguCBF1* genes overexpressed in Eucalyptus display a different impact on stress tolerance and plant development [J]. Plant Biotechnol J, 9(1): 50-63.

NAVARRO M, MARQUE G, AYAX C, et al, 2009. Complementary regulation of four Eucalyptus *CBF* genes under various cold conditions [J]. J Exp Bot, 60(9): 2713-24.

NEGI NP, SHRIVASTAVA DC, SHARMA V, et al, 2015. Overexpression of *CuZnSOD* from *Arachis hypogaea* alleviates salinity and drought stress in tobacco [J]. Plant Cell Rep, 34(7): 1109-1126.

NGUYEN HC, CAO PB, SAN CH, et al, 2017. Special trends in CBF and DREB2 groups in *Eucalyptus gunnii* vs *Eucalyptus grandis* suggest that CBF are master players in the trade-off between growth and stress resistance [J]. Physiol Plant, doi: 10.1111/ppl.12529.

XU J, DUAN X, YANG J, et al, 2013. Enhanced reactive oxygen species scavenging by overproduction of superoxide dismutase and catalase delays postharvest physiological deterioration of cassava storage roots [J]. Plant Physiol, 161(3): 1517-1528.

XU FH, CHENG LJ, WEI XL, et al, 2016. Expression and function of *EgrCR* gene responding to cold stress in *Eucalyptus grandis* [J]. Sci Silv Sin, 52(3): 59-67. [徐风华,程龙军,魏晓玲等, 2016. 巨桉低温胁迫响应基因

- EgrCR 的表达与功能 [J]. 林业科学, 52(3):59-67.]
- YAN H, LI Q, PARK SC, et al, 2016. Overexpression of CuZnSOD and APX enhance salt stress tolerance in sweet potato [J]. Plant Physiol Biochem, 109(2016):20-27.
- ZHANG HN, LI XJ, LI CD, et al, 2008. Effects of overexpression of wheat superoxide dismutase (SOD) genes on salt tolerant capability in tobacco [J]. Acta Agron Sin, 34(8):1403-1408. [张海娜, 李小娟, 李存东, 等, 2008. 过量表达小麦超氧化物歧化酶(SOD)基因对烟草耐盐能力的影响 [J]. 作物学报, 34(8):1403-1408.]
- ZHAO YL, LU H, JIANG XN, 2012. Regulation of lignin biosynthesis in *Populus tomentosa* with GRP1.8 promoter and 4CL1 gene constructs [J]. J Chengdu Univ, 31(2):99-102. [赵艳玲, 陆海, 蒋湘宁, 2012. GRP1.8 融合 4CL1 基因调控杨树木质素生物合成 [J]. 成都大学学报, 31(2):99-102.]
- ZHAO YL, ZHOU LJ, 2015. Cloning and expression of the cytosolic Copper/Zinc superoxide dismutase gene in *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla* [J]. J Huaqiao Univ (Nat Sci Ed), 36(6):693-697. [赵艳玲, 周利建, 2015. 巨尾桉胞质 *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla* 基因的克隆与原核表达 [J]. 华侨大学学报(自然科学版), 36(6):693-697.]
- ZHOU LJ, ZHAO YL, 2012. Optimization of *Eucalyptus grandis* × *E. ophylla* tissue culture and regeneration system on genetic transformation [J]. Guangdong Agric Sci, 39(22):51-54. [周利建, 赵艳玲, 2012. 巨尾桉组培快繁与转基因再生体系的优化 [J]. 广东农业科学, 39(22):51-54.]

《广西植物》最新影响因子及总被引频次

据中国科学技术信息研究所 2017 年版《中国科技期刊引证报告》(核心版)最新统计,本刊核心影响因子为 0.647(增幅 25.4%),核心总被引频次为 1146(增幅 6.8%),在 12 种植物学类期刊中综合排名第 7。另据中国知网(CNKI)2017 版《中国学术期刊影响因子年报》最新统计,本刊复合影响因子为 1.0(增幅 34.4%),总被引频次为 2792(增幅 8.4%),影响力指数(CI)学科排名提升了 7 位。

《广西植物》编辑部

2018 年 1 月 26 日