

# 蜡梅 *SAMT* 基因遗传转化及其功能分析

庞宏东<sup>1,2</sup>, 向林<sup>3</sup>, 赵凯歌<sup>1</sup>, 李响<sup>1</sup>, 杨楠<sup>1</sup>, 陈龙清<sup>1\*</sup>

(1.华中农业大学园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 湖北 武汉 430070;

2.湖北省林业科学研究所, 湖北 武汉 430075; 3.浙江省农业科学院园艺研究所, 浙江 杭州 310021)

**摘要:**为研究蜡梅 *SAMT* 基因的调控功能, 通过构建 pBI121-*CpSAMT* 植物二元表达载体, 利用农杆菌介导法将其转入矮牵牛中, 经 PCR 和 RT-PCR 对转化植株进行检测, 同时采用顶空固相微萃取以及气相色谱-质谱技术 (HS-SPME-GC-MS), 对转基因矮牵牛鲜花进行花香成分分析。结果显示: 9 株转化苗均能扩增出目的条带, RT-PCR 检测结果进一步证明, 阳性植株均发生了正确转录; 转基因矮牵牛植株和未转基因对照植株在植株大小、叶片形态、花色、花瓣大小以及花期等方面均未发现有明显差异。鲜花芳香成分分析表明, 转 *CpSAMT* 基因矮牵牛中苯甲醛和苯乙醇含量明显升高, 并产生了香茅醇、乙酸香茅酯和乙酸苯乙酯等成分, 但水杨酸甲酯和苯甲酸甲酯含量没有显著改变。

**关键词:**蜡梅; *CpSAMT* 基因; 转基因; 矮牵牛; 花香代谢途径; 气相色谱质谱

中图分类号: Q78; S685

文献标志码: A

文章编号: 1000-2006(2015)06-0029-06

## Genetic transformation and functional analysis of the *SAMT* gene in *Chimonanthus praecox*

PANG Hongdong<sup>1,2</sup>, XIANG Lin<sup>3</sup>, ZHAO Kaige<sup>1</sup>, LI Xiang<sup>1</sup>, YANG Nan<sup>1</sup>, CHEN Longqing<sup>1\*</sup>

(1.Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, College of Horticulture and Forestry Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. Hubei Academy of Forestry, Wuhan 430075, China;

3 Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

**Abstract:** In order to investigate the biological function of the *Chimonanthus praecox SAMT* gene, here we reported that the plant binary expression vector pBI121-*CpSAMT* was constructed and then the *CpSAMT* gene was introduced into petunia through *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation. PCR and RT-PCR was used to test the transgenic plants, and HS-SPME-GC-MS was employed to analyze the components of flower flavor. Results showed that nine independent transgenic lines obtained were positive. Further analysis showed that transgenic plants were indistinguishable from untransformed controls in terms of plant size, leaf morphology, flower color, petal size and flowering time. The analysis of HS-SPME-GC-MS showed that the content of benzaldehyde, phenylethanol, citronellol, citronellyl acetate and phenethyl acetate in flowers of transgenic *CpSAMT* plants was increased. However, the contents of methyl salicylate and methyl benzoate had not been significantly changed comparing with non-transgenic controls.

**Keywords:** *Chimonanthus praecox*; *CpSAMT*; genetic transformation; *Petunia hybrida*; floral scent metabolic pathway; GC-MS

花香作为吸引昆虫传粉的主要因素, 在植物的生长繁衍过程中扮演着重要角色。水杨酸甲酯 (MeSA) 是广泛存在于植物花香中的低分子挥发物, 属苯环型芳香化合物, 它以水杨酸和 S-腺苷甲硫氨酸为底物, 在水杨酸羧基位甲基转移酶 (S-adenosyl-L-methionine, salicylic acid carboxyl methyltransferase, *SAMT*) 的催化下形成。Ross 等<sup>[1]</sup> 首

次从仙女扇 (*Clarkia breweri*) 中克隆得到 *SAMT* 基因, 全长 1 321 bp, 编码 359 个氨基酸。目前从金鱼草 (*Antirrhinum majus*)、多花黑鳗藤 (*Stephanotis floribunda*)、烟草 (*Nicotiana tabacum*)、水稻 (*Oryza sativa*)、薇甘菊 (*Mikania micrantha*) 等 30 多种植物中都已成功分离出 *SAMT* 基因, 并对这些基因的功能进行了分析<sup>[2-5]</sup>。近年来的研究表明水杨酸甲

收稿日期: 2014-06-08

修回日期: 2014-10-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30972019)

第一作者: 庞宏东, 硕士。\* 通信作者: 陈龙清, 教授。E-mail: chenlq0206@163.com。

引文格式: 庞宏东, 向林, 赵凯歌, 等. 蜡梅 *SAMT* 基因遗传转化及其功能分析 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2015, 39(6): 29

酯在植物防御系统方面起着重要作用,如蜘蛛螨(*Tetranychus urticae*)的取食可以诱发番茄(*Lycopersicon esculentum*) MeSA 的产生<sup>[6]</sup>,水稻在受到草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)的伤害后 MeSA 散发量是未受伤害前的 23 倍<sup>[7]</sup>。目前,对合成 MeSA 关键酶的 SAMT 的研究多集中在基因克隆、花香产物代谢调控以及防御功能等方面,而对利用 SAMT 基因进行花香遗传改良方面的研究报道较少。

蜡梅(*Chimonanthus praecox*)作为我国特有的传统名花,冬季开放,芳香宜人,具有很高的观赏价值,同时也是提取香精的理想材料。郑瑶青等<sup>[8]</sup>首先对蜡梅鲜花花香成分进行了研究,发现萜烯类化合物含量最高。江婷等<sup>[9]</sup>、李正国等<sup>[10]</sup>和程振<sup>[11]</sup>采用蒸馏法提取蜡梅花挥发油,经 GC-MS 分析鉴定,发现主要成分也为萜烯类化合物。而根据周明芹等<sup>[12]</sup>、Deng 等<sup>[13]</sup>和周继荣等<sup>[14]</sup>的研究,蜡梅花香成分主要为萜烯类化合物和苯环型化合物。前人对蜡梅功能基因的研究多集中在抗寒、抗旱等抗逆性状功能基因上<sup>[15-18]</sup>,花香、花色等观赏性状功能基因的研究尚处于起步阶段。笔者利用同源克隆的方法从蜡梅花瓣中首次克隆得到 SAMT 基因,全长为 1 498 bp,具有一个 1 143 bp 的完整的开放阅读框,编码具有 380 个氨基酸的羧基位甲基转移酶蛋白,GenBank 登录号为 EU106367<sup>[19]</sup>。该酶在花香物质代谢途径中属于苯丙酸类化合物/苯环型化合物代谢类型,起源于莽草酸途径,以苯丙氨酸为起始,经过一系列的酶催化最后形成水杨酸甲酯(MeSA)<sup>[20]</sup>。

为进一步研究 CpSAMT 基因在花香产物代谢途径中的调控功能,笔者构建了 pBI121-CpSAMT 二元表达载体,利用农杆菌介导的叶盘法转化花香模式植物矮牵牛,并用分子检测方法鉴定转化效果,同时,利用顶空固相微萃取和气相色谱质谱联用技术对转化植株的花香成分进行检测,分析转化前后矮牵牛形态和花香成分的变化情况,探索 Cp-SAMT 基因在花香代谢途径中的调控功能。

## 1 材料与方法

### 1.1 试材

矮牵牛(*Petunia hybrida*)无菌苗由华中农业大学园艺林学学院宁国贵老师惠赠。

CpSAMT 基因全长片段,由园艺植物生物学教育部重点实验室克隆并保存于大肠杆菌中。采用的大肠杆菌(*Escherichia coli*)为 DH5 $\alpha$  菌株,根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)为 EHA105 菌

株。植物二元表达载体 pBI121 由华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室郭文武教授惠赠。

限制性内切酶、T4 DNA 连接酶购自 Takara 生物工程(大连)有限公司;TA 克隆试剂盒, M-MLV Reverse Transcriptase 试剂盒购自上海英骏生物技术有限公司;质粒小量提取试剂盒, DNA 凝胶回收试剂盒, Taq 酶和 dNTP 购自广州东盛生物科技有限公司;RNA 提取试剂盒购自上海华舜生物技术公司,固相 RNase 清除剂购自北京天恩泽基因科技有限公司。鲜花挥发性成分快速萃取使用美国 Supelco 公司制造的 75  $\mu$ m Carboxen/PDMS 萃取纤维头;挥发性成分分析使用美国 Thermo 公司制造的 DSQII 单四级杆气相色谱质谱联用仪(GC-MS)。

### 1.2 蜡梅 SAMT 基因植物二元表达载体的构建

根据表达载体和 CpSAMT 基因的全长序列设计上游引物 S1 (5'-GAGAGGATCCATGGAAG-TACTTAGCGTTCT-3',下划线部分为 BamH I 酶切位点),下游引物 S2 (5'-GATGGAGCTCTTAGAT-GTCTGCTTTCTTCTCCAA-3',下划线部分为 Sac I 酶切位点)。

从含 CpSAMT 基因全长片段的大肠杆菌中提取质粒 DNA 作为模板进行 PCR 扩增,反应程序为:94  $^{\circ}$ C 预变性 4 min;94  $^{\circ}$ C 变性 30 s,70~60  $^{\circ}$ C 复性 30 s(每进行 5 个循环退火温度下降 2  $^{\circ}$ C),72  $^{\circ}$ C 延伸 2 min,总共进行 30 个循环;退出循环后再 72  $^{\circ}$ C 延伸 20 min。将 PCR 扩增产物电泳回收纯化,同时用 BamH I 和 Sac I 双酶切产物和 pBI121 表达载体,电泳回收酶切目的产物,然后用 T4 DNA 连接酶在 16  $^{\circ}$ C 条件下连接并过夜,连接产物热激法转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ ,经 PCR 鉴定为阳性的菌斑培养提取质粒,用 BamH I 和 Sac I 进行双酶切鉴定。

### 1.3 农杆菌介导转化矮牵牛

将构建好的表达载体用液氮冻融法导入感受态农杆菌 EHA105 中。将矮牵牛无菌苗叶片组织去除主脉切成 5 mm $\times$ 5 mm 大小,置于 MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L 共培养基上预培养 1 d,然后将预培养后的叶片组织置于制备好的农杆菌菌液中(OD<sub>600</sub> 值为 0.3~0.4),侵染 10 min,无菌滤纸吸干多余菌液,重新置于共培养基上暗培养 2 d;再将叶片转移至 MS+6-BA 1.5 mg/L+ IBA 0.5 mg/L+ Kan 50 mg/L+ Cef 300 mg/L 分化培养基上,正常光照条件培养,每 15 d 更换一次培养基,直到分化出不定芽;长芽后,将芽切下转入 MS+ IBA 0.1 mg/L

+ Kai 50 mg/L+ Cef 300 mg/L继代培养基上培养;待长至 2~3 片叶时,转入 1/2MS+ Kan 30 mg/L+ Cef 200 mg/L生根培养基上进行生根培养;待根系发育好后,移栽至花盆,温室大棚常规管理。培养室温度 25 ℃,日光灯照明,光照时间 14 h/d。

#### 1.4 转基因矮牵牛的 PCR、RT-PCR 检测方法

采用 CTAB 法提取抗性植株嫩叶基因组总 DNA 作为模板,以 S1 和 S2 为引物,进行 PCR 扩增,反应条件为 94 ℃ 预变性 4 min,然后进入循环反应,94 ℃ 变性 30 s,70~60 ℃ 复性 30 s(每进行 5 个循环退火温度下降 2 ℃),72 ℃ 延伸 2 min,总共进行 30 个循环,退出循环后再 72 ℃ 延伸 20 min。

提取抗性植株嫩叶片 RNA,反转录成 cDNA,以 S1 和 S2 为引物进行 PCR 扩增,电泳检测后将产物送华大基因测序。

#### 1.5 转基因矮牵牛鲜花中挥发性成分分析方法

采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱技术(HS-SPME-GC-MS)对转基因矮牵牛鲜花进行花香成分分析。固相微萃取条件:PDMS 萃取纤维头在气相色谱仪进样口老化,老化温度 260 ℃,老化时间 2 h。老化后,取刚完全开放鲜花 1 朵,剪碎迅速放入 20 mL 样品瓶中,盖上瓶盖,放置于样品盘固定器上,自动进样,40 ℃ 吸附 5 min。吸附完成后,于气相色谱仪进样口(温度 250 ℃)解吸 2 min。色谱条件:色谱柱为毛细管柱 HP-5MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm,载气为高纯氦气(99.999%),氦气流速为 1 mL/min,进样口温度为 260 ℃,起始柱温度为 60 ℃,保持 2 min,以 10 ℃/min 升温至 230 ℃,保持 13 min。质谱条件:电离源为 EI, EI 电离能量为 70 eV,离子源温度为 250 ℃,传输线温度 250 ℃,质量扫描范围为 30~500 amu。芳香成分鉴定用气相色谱-质谱-计算机联用仪进行分析鉴定;各组分质谱图经 NIST98 谱图库检索法结合人工谱图分析法进行分析。每个处理组随机测定 3 个单株的花朵。

## 2 结果与分析

### 2.1 双元表达载体的检验

双元表达载体 pBI121-CpSAMT 重组质粒经 PCR 扩增后,在约 1 200 bp 处有单一明亮的条带,然后用 BamH I 和 Sac I 内切酶对重组质粒进行双酶切,电泳检测发现能切出 2 条明亮主带,其中一条与理论值 1 200 bp 的片段相符合(图 1),表明 CpSAMT 基因片段已经连接到 pBI121 植物表达载体上。

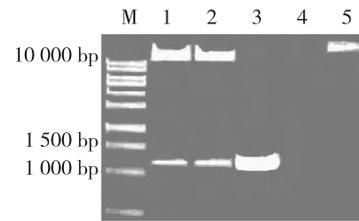


图 1 pBI121-CpSAMT 表达载体双酶切 (BamH I 和 Sac I) 结果

Fig.1 Digestion of pBI121-CpSAMT expression vector with BamH I and Sac I

注:M.1 kb 分子质量标记;1,2. pBI121-CpSAMT 表达载体双酶切产物;3.pBI121-CpSAMT 质粒 PCR 结果;4. pBI121 质粒 PCR 结果;5.pBI121-CpSAMT 质粒。下同。

Note:M. 1 kb ladder marker;1,2. digestion product of PBI121-CpSAMT expression vector with BamH I and Sac I;3. the product PCR of PBI121-CpSAMT;4. the product PCR of PBI121;5. the expression vector of PBI121-CpSAMT. The same below.

### 2.2 转基因植株的表现

经农杆菌浸染的矮牵牛叶片组织培养 20 d 后,在 50 mg/L Kan 抗性筛选培养基上即可看见有绿色芽点分化,而未经农杆菌浸染转化的对照矮牵牛叶片组织在抗性培养基上不能正常分化出丛生芽,且白化而死。抗性丛生芽经继代培养和生根培养后共获得 40 株抗性植株,2011 年 3 月将其栽培于温室大棚,常规管理,2 个月后开始开花,3 个月后进 入盛花期(图 2)。对转基因矮牵牛植株和未转基因

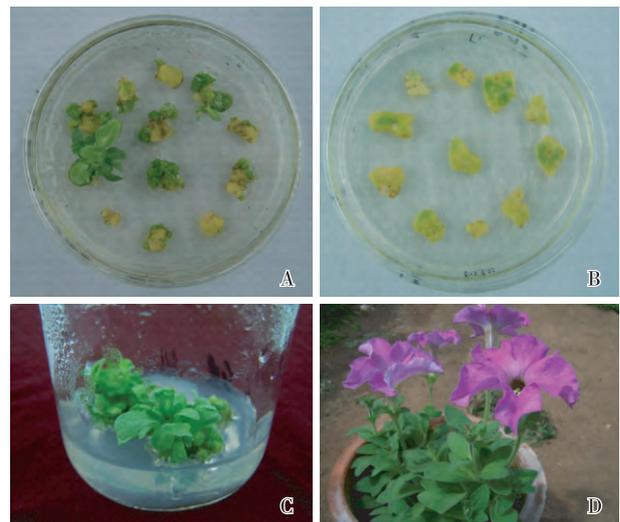


图 2 转化 pBI121-CpSAMT 基因矮牵牛

Fig.2 The cultivar of transgenic petunia with pBI121-CpSAMT expression vector

注:A.转化 pBI121-CpSAMT 基因矮牵牛再生;B.未转化矮牵牛枯死;C.转基因矮牵牛幼苗;D.转基因矮牵牛开花。

Note:A. regeneration of petunia transformed with PBI121-CpSAMT;B. the death of petunia don't transform;C. the younger petunia of transform;D. flowering of transformed petunia.

对照植株从植株形态、叶片形状、花色、花冠大小及花期等方面进行观察,未发现有明显变化。

### 2.3 转化植株的鉴定

#### 2.3.1 PCR 检测

对获得的矮牵牛转基因苗随机选取9个单株,提取叶片DNA,经PCR扩增后,发现9个单株在约1 200 bp处均能扩增出单一的条带,并且与转入的对照质粒PCR产物大小相似,而未转化矮牵牛植株未能扩增出条带(图3),可以初步判断*CpSAMT*基因已经整合到植物基因组中。



图3 转基因矮牵牛 PCR 鉴定

Fig.3 PCR assay of transgenic petunia plants

注:M.DS2000分子质量标记;1~9.不同的转基因株系PCR扩增产物;10.pBI121-*CpSAMT*质粒PCR产物;CK.未转化植株PCR产物。

Note:M. DS2000 Maker;1~9. the product PCR of transformed petunia;10. the product PCR of pBI121-*CpSAMT* expression vector; CK. the product PCR of petunia don't transgenic.

#### 2.3.2 RT-PCR 检测

随机选取9株经PCR检测为阳性的矮牵牛,提取叶片RNA,合成cDNA,经RT-PCR扩增,电泳检测,在大小约1 200 bp处有单一明亮条带,与对照质粒PCR产物大小一致(图4),可以断定在这些单株中发生了基因转录。为了进一步验证转录的正确性,将RT-PCR产物回收纯化,进行测序,将测序结果与*CpSAMT*原序列比对,基因编码区序列一致,证明阳性转基因植株发生了正确的基因转录。



图4 转基因矮牵牛 RT-PCR 鉴定

Fig.4 RT-PCR assay of transgenic petunia plants

注:M.DS2000分子质量标记;1~9.不同的转基因株系RT-PCR扩增产物;CK.pBI121-*CpSAMT*质粒PCR产物。

Note:M. DS2000 Maker;1~9. the product RT-PCR of transformed petunia;CK. the product PCR of pBI121-*CpSAMT* expression vector.

### 2.4 转*CpSAMT*基因矮牵牛鲜花中挥发性成分分析

矮牵牛花香成分以苯环型化合物为主,萜类化合物也是主要芳香成分之一。未转基因矮牵牛鲜花中主要花香挥发物有苯甲酸甲酯、水杨酸甲酯、苯甲酸、雪松醇等,其中苯甲酸甲酯为最重要的芳香成分(表1)。从表1可以看出,转*CpSAMT*基因矮牵牛鲜花挥发性成分中,苯甲醛和苯乙醇含量明显升高,与未转基因矮牵牛和转pBI121质粒矮牵牛相比存在显著差异( $P < 0.05$ );同时产生了香茅醇、乙酸香茅酯和乙酸苯乙酯等芳香成分,而这些成分在对照植株中没有检测到。水杨酸甲酯、邻苯二甲酸二异丁酯、苯甲酸、苯甲酸苄酯和雪松醇在转化前后无明显变化,主要芳香成分苯甲酸甲酯在未转基因矮牵牛中含量最低,在转pBI121质粒矮牵牛中最高,但转化前后方差分析表明无显著差异。在转pBI121质粒矮牵牛花香成分中,除了产生少量的苯甲醇和乙酸苄酯外,与未转基因矮牵牛相比无其他明显变化。

表1 矮牵牛转化前后主要芳香成分相对含量

Table 1 Comparison of major volatile components of fresh flower of non-transgenic petunia and transgenic petunia %

类型 type	苯甲酸 甲酯 methyl benzoate	水杨酸 甲酯 methyl salicylate	邻苯二甲 酸二异 丁酯 diisobutyl phthalate	苯甲酸 benzoic acid	苯甲醛 benzaldehyde	苯甲酸 苄酯 benzyl benzene- carboxylate	苯乙醇 phenethyl alcohol	雪松醇 cedrol	苯甲醇 benzyl alcohol	乙酸 苄酯 benzyl acetate	乙酸香 茅酯 citronellyl acetate	香茅醇 geraniol	乙酸苯 乙酯 phenethyl acetate
非转基因	46.99±27.89a	1.56±0.69a	1.47±0.93a	1.48±0.39a	0.57±0.13a	0.18±0.06a	0.11±0.02a	1.19±0.56a	-	-	-	-	-
转 pBI121	67.43±9.63a	1.66±0.40a	0.19±0.06a	0.72±0.04a	0.43±0.16a	0.18±0.09a	0.26±0.23a	0.22±0.13a	0.61±0.83	0.12±0.03	-	-	-
转 <i>CpSAMT</i>	58.46±13.56a	1.27±0.68a	0.51±0.11a	1.45±0.75a	6.50±2.92b	0.18±0.02a	5.22±1.88b	0.80±0.70a	-	-	6.78±3.88	7.2±2.94	2.82±1.47

注:-表示未检测到;表格内数据为 mean ± SE;同列不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Note:- not detectable; values are mean ± SE; The values in the same column with different letters show significant differences ( $P < 0.05$ ).

## 3 讨论

由农杆菌介导转化和抗性培养基筛选培养所获得的转基因矮牵牛植株,经过PCR和RT-PCR检测,均表明获得了转化的阳性植株。RT-PCR产物测序结果与*CpSAMT*原序列比对,发现基因编码

区序列一致,这证明*CpSAMT*基因已经成功转化矮牵牛。转基因矮牵牛植株与未转基因对照植株相比较,在植株形态、叶片形状、花色、花冠大小及花期等方面均未发现有明显变化。转*CpSAMT*基因后,矮牵牛鲜花芳香成分与对照相比,苯甲醛和苯乙醇显著升高,并检测到香茅醇、乙酸香茅酯和乙

酸苯乙酯等芳香成分,但苯甲酸甲酯和水杨酸甲酯含量没有显著改变。水杨酸羧基位甲基转移酶在花香物质代谢途径中属于苯丙酸类化合物/苯环型化合物代谢类型,主要以水杨酸为底物生成最终产物水杨酸甲酯,也能以苯甲酸为底物生成苯甲酸甲酯<sup>[21-22]</sup>。将 *CpSAMT* 基因导入矮牵牛后发现,水杨酸甲酯、苯甲酸甲酯和苯甲酸等参与该酶代谢途径的主要成分没有发生显著变化,反而产生了香茅醇等非本代谢途径的芳香成分。Lücker 等<sup>[23]</sup>将芳樟醇合成酶(LIS)基因转入矮牵牛,转化植株花中只产生少量的芳樟醇,而非挥发性的芳樟醇糖苷在转基因植株中大量累积。Aranovich 等<sup>[24]</sup>将从仙女扇中克隆得到的苯甲醇乙酰基转移酶(BEAT)基因转入洋桔梗(*Eustoma grandiflorum*),在有外源底物苯甲醇的情况下,转化植株的花和叶中都有乙酸苄酯的产生,但在没有外源底物的情况下不能产生相应产物。这与笔者的研究结果较为相似,说明并非所有外源基因的导入都能引起相应的变化,反而有可能会对插入点的基因产生破坏或者干扰。然而 Koo 等<sup>[25]</sup>将水稻 *OsBSMT1* 基因构建超表达载体转入拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中后发现其水杨酸甲酯挥发量约为野生型拟南芥的10倍。Ament 等<sup>[26]</sup>使用 RNA 干扰技术将番茄中 *SAMT* 基因沉默后发现水杨酸甲酯明显减少,但不影响萜类化合物的产生。此次实验未能发现如此明显变化,尚有待进一步研究。

芳香植物在园林应用中具有较高的地位,利用花香遗传改良工程进行香花植物的转基因育种具有重要的经济价值和观赏价值。目前在这方面的研究已经取得了一定的成果,但由于花香的遗传改良是一项极为复杂的工程,且花香物质数量众多,其代谢调控的机理又非常复杂,而且目标基因在不同转化体和不同植物中的表达存在较大差异,花香遗传改良工程还面临着许多问题。因此构建 RNAi 干扰载体和超表达载体,开展 *CpSAMT* 基因遗传转化进一步的验证,将是今后的研究工作。

#### 参考文献(References):

- [ 1 ] Ross J R, Nam K H, D'Auria J C, et al. S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase, an enzyme involved in floral scent production and plant defense, represents a new class of plant methyltransferases [ J ]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1999, 367(1): 9-16.
- [ 2 ] Negre F, Kolosova N, Knoll J, et al. Novel S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase, an enzyme responsible for biosynthesis of methyl salicylate and methyl benzoate, is not involved in floral scent production in snapdragon flowers [ J ]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2002, 406(2): 261-270.
- [ 3 ] Pott M B, Effmert U, Piechulla B. Transcriptional and posttranslational regulation of S-adenosyl-L-methionine salicylic acid carboxyl methyltransferase (*SAMT*) during *Stephanotis floribunda* flower development [ J ]. J Plant Physiol, 2003, 160(6): 635-643.
- [ 4 ] Xu R R, Song F M, Zheng Z. *OsBISAMT1*, a gene encoding S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase, is differentially expressed in rice defense responses [ J ]. Molecular Biology Reports, 2006, 33(3): 223-231.
- [ 5 ] 王文天,彭少麟,李冬梅,等. 薇甘菊水杨酸羧甲基转移酶基因的分鉴定及表达分析 [ J ]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(5): 445-450.
- [ 5 ] Wang W T, Peng S L, Li D M, et al. Cloning, identification and expression of salicylic acid carboxyl methyltransferase gene from *Mikania micrantha* [ J ]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2009, 17(5): 445-450.
- [ 6 ] Kant M R, Ament K, Sabelis M W, et al. Differential timing of spider mite-induced direct and indirect defenses in tomato plants [ J ]. Plant Physiology, 2004, 135(1): 483-495.
- [ 7 ] Zhao N, Guan J, Ferrer J L, et al. Biosynthesis and emission of insect-induced methyl salicylate and methyl benzoate from rice [ J ]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(4): 279-287.
- [ 8 ] 郑瑶青,朱芸,张瑞燕,等. 蜡梅鲜花香气成分的研究 [ J ]. 北京大学学报, 1990, 26(6): 667-672.
- [ 8 ] Zheng Y Q, Zhu Y, Zhang R Y, et al. Studies on the natural flavor components of *Chimonanthus praecox* L. flower [ J ]. Universitas Pekinsis, 1990, 26(6): 667-672.
- [ 9 ] 江婷,苑金鹏,程传格,等. 腊梅花挥发油化学成分分析 [ J ]. 光谱实验室, 2005, 22(6): 1329-1332.
- [ 9 ] Jiang T, Yuan J P, Cheng C G, et al. Analysis of the essential oil from *Chimonanthus praecox* [ J ]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2005, 22(6): 1329-1332.
- [ 10 ] 李正国,刘明春,邓伟,等. 素心蜡梅和红心蜡梅鲜花挥发油成分分析 [ J ]. 精细化工, 2008, 25(10): 985-988, 992.
- [ 10 ] Li Z G, Liu M C, Deng W, et al. Comparative analysis of the essential oil from two *Chimonanthus praecox* cultivars [ J ]. Fine Chemicals, 2008, 25(10): 985-988, 992.
- [ 11 ] 程振. 蜡梅花精油提取及其产业化开发研究 [ D ]. 南京: 南京林业大学, 2013.
- [ 11 ] Cheng Z. Wintersweet essential oil extraction and industrialization development [ D ]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2013.
- [ 12 ] 周明芹,向林,陈龙清. 蜡梅花香及花色色素成分的初步研究 [ J ]. 北京林业大学学报, 2007, 29(S1): 22-25.
- [ 12 ] Zhou M Q, Xiang L, Chen L Q. Preliminary studies on the components of volatile floral flavor and flower pigments of *Chimonanthus praecox* L. [ J ]. Journal of Beijing Forestry University, 2007, 29(S1): 22-25.
- [ 13 ] Deng C H, Song G X, Hu Y M. Rapid determination of volatile compounds emitted from *Chimonanthus praecox* flowers by HS-SPME-GC-MS [ J ]. Z Naturforsch C, 2004, 59(9-10): 636-640.
- [ 14 ] 周继荣,倪德江. 蜡梅不同品种和花期香气变化及其花茶适制性 [ J ]. 园艺学报, 2010, 37(10): 1621-1628.
- [ 14 ] Zhou J R, Ni D J. Changes in flower aroma compounds of cultivars of *Chimonanthus praecox* (L.) Link and at different stages relative

- to *Chimonanthus tea* quality[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2010, 37(10): 1621-1628.
- [15] 秦华, 睦顺照, 李名扬, 等. 蜡梅 *Chimonanthus praecox* (L.) Link COR413 蛋白基因 (*Cpcor413pm1*) 的分子特性与表达分析[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2006, 22(7): 547-552.
- Qin H, Sui S Z, Li M Y, et al. Molecular characterization and expression analysis of a novel COR413 gene from wintersweet [*Chimonanthus praecox* (L.) Link] [J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2006, 22(7): 547-552.
- [16] 刘群, 马婧, 祝钦泷, 等. 蜡梅非特异性脂转移蛋白基因 *nsLTP* 家族 3 个成员的分子特征及非生物胁迫应答分析[J]. *农业生物技术学报*, 2009, 17(6): 1027-1034.
- Liu Q, Ma J, Zhu Q L, et al. Expression analysis of three nonspecific lipid transfer protein (*nsLTP*) genes in response to abiotic stresses in *Chimonanthus praecox* [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2009, 17(6): 1027-1034.
- [17] 张迷, 马婧, 马鑫, 等. 蜡梅水通道蛋白基因分子特征分析及植物表达载体的构建[J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2010, 32(6): 83-88.
- Zhang M, Ma J, Ma X, et al. Molecular characteristics analysis of the aquaporin gene CpAQP cloned from *Chimonanthus praecox* and its plant expression vector construction [J]. *Journal of Southwest University: Natural Science Edition*, 2010, 32(6): 83-88.
- [18] Zhang S H, Wei Y, Liu J L, et al. An apoplastic chitinase *CpCHT1* isolated from the corolla of wintersweet exhibits both antifreeze and antifungal activities [J]. *Biologia Plantarum*, 2011, 55(1): 141-148.
- [19] 向林. 蜡梅花香相关基因的克隆与功能分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- Xiang L. Molecular cloning and functional analysis of floral scent related genes from *Chimonanthus praecox* L. [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009.
- [20] Boatright J, Negre F, Chen X, et al. Understanding *in vivo* benzenoid metabolism in petunia petal tissue [J]. *Plant Physiology*, 2004, 135(4): 1993-2011.
- [21] Dudareva N, Pichersky E. Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents [J]. *Plant Physiology*, 2000, 122(3): 627-633.
- [22] Pott M B, Hippauf F, Saschenbrecker S, et al. Biochemical and structural characterization of benzenoid carboxyl methyltransferases involved in floral scent production in *Stephanotis floribunda* and *Nicotiana suaveolens* [J]. *Plant Physiology*, 2004, 135(4): 1946-1955.
- [23] Lückner J, Bouwmeester H J, Schwab W, et al. Expression of clarkia S-linalool synthase in transgenic petunia plants results in the accumulation of S-linalyl-beta-D-glucopyranoside [J]. *The Plant Journal*, 2001, 27(4): 315-324.
- [24] Aranovich D, Lewinsohn E, Zaccai M. Post-harvest enhancement of aroma in transgenic lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) using the *Clarkia breweri* benzyl alcohol acetyltransferase (BEAT) gene [J]. *Postharvest Biology Technology*, 2007, 43(2): 255-260.
- [25] Koo Y J, Kim M A, Kim E H, et al. Overexpression of salicylic acid carboxyl methyltransferase reduces salicylic acid-mediated pathogen resistance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 64(1-2): 1-15.
- [26] Ament K, Krasikov V, Allmann S, et al. Methyl salicylate production in tomato affects biotic interactions [J]. *The Plant Journal*, 2010, 62(1): 124-134.

(责任编辑 刘昌来)

## 《林业科技开发》更名为《林业工程学报》启事

根据林业工程学科的发展需要和部分读者的建议, 经研究, 并报请国家新闻出版广电总局批准(新广出审[2015]868号), 《林业科技开发》将自2016年起更名为《林业工程学报》, 刊号为CN 32-1862/S。

该刊目前为中文核心期刊、中国科技核心期刊、RCCSE中国核心学术期刊和中国农业核心期刊, 并被国内外多家数据库收录。更名后原有的期刊数据和评价结果将予以继承。办刊方针以精品化、国际化为导向, 重点报道木材科学与技术、林产化学加工、生物质能源与材料、林业装备与信息化、森林工程与土建交通、家具设计与制造等方面的科研成果和最新进展, 大力促进林业工程学科的科研创新和学术交流, 扶植培养高层次林业工程人才, 积极推动我国林业工程学科向更高水平发展。

《林业工程学报》主要栏目: 木材科学与技术、林产化学加工、生物质能源与材料、林业装备与信息化、森林工程、家具设计与制造等, 适合于从事林业工程科研、教学和技术开发人员阅读参考。

《林业工程学报》为双月刊, 大16K, 120页, 公开发行, 刊号CN 32-1862/S, 邮发代号28-103。单价: 20元/册, 全年120元, 逢单月25日出版。

编辑部地址: 南京市龙蟠路159号南京林业大学内 邮编: 210037

电话: 025-85427227, 85427298

期刊网址 <http://lkkf.njfu.edu.cn>

E-mail: lkkf@vip.163.com, lygxcb@vip.163.com

(南京林业大学期刊部)