

核桃翻译起始因子 *JreIF1A* 的克隆及抗旱功能分析

任得元¹,赵焕元²,刘玉梅²,高向倩²,孙宇栋²,杨桂燕^{2*}

(1. 杨凌职业技术学院,陕西 杨陵 712100;2. 西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

摘 要:真核生物翻译起始因子(eIF1)在逆境响应中具有一定的调节功能。本研究克隆获得核桃(*Juglans regia*)的1条*eIF1A*基因(命名为*JreIF1A*),通过生物信息学、基因表达及酵母转化等不同技术,分析*JreIF1A*在干旱胁迫下的基本生物功能。结果表明,*JreIF1A*的开放阅读框为438 bp,编码的多肽含145个氨基酸,分子量为16 344.48 u,理论等电点为5.08。*JreIF1A*与土瓶草(*Cephalotus follicularis*)、毛果杨(*Populus trichocarpa*)等的亲缘关系较近。*JreIF1A*能被干旱胁迫显著诱导,且在根和叶中具有表达特异性。将*JreIF1A*转入酵母,对转基因酵母INVSC1(pYES2-*JreIF1A*)及对照酵母INVSC1(pYES2)分别进行干旱(山梨醇,0.2 mol/L)处理,发现INVSC1(pYES2-*JreIF1A*)在干旱胁迫下的生长活性显著优于INVSC1(pYES2)。表明*JreIF1A*基因能不同程度地响应干旱胁迫,其表达可有效改善转基因酵母的抗旱响应能力;*JreIF1A*基因可作为核桃逆境适应机制研究的候选基因。

关键词:核桃;真核翻译起始因子;*eIF1A*基因;逆境响应;酵母转化

中图分类号:Q943.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2019)06-0103-06

Identification and Drought Stress Response Analysis of Eukaryotic Initiation Factor *JreIF1A* from *Juglans regia*

REN De-yuan¹, ZHAO Huan-yuan², LIU Yu-mei², GAO Xiang-qian², SUN Yu-dong², YANG Gui-yan^{2*}

(1. Yangling Vocational & Technical College, Yangling 712100, Shaanxi China;

2. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi China)

Abstract: The eukaryotic translation initiation factors (eIFs) play vital roles in plant stress response. In this study, an *eIF1A* gene (named *JreIF1A*) was obtained from *Juglans regia*, and the basic biological functions of *JreIF1A* under drought stress was analyzed by different techniques containing bioinformatics, gene expression and yeast transformation. The results showed that the open reading frame (ORF) of *JreIF1A* was 438 bp, the encoded polypeptide contained 145 amino acids, the molecular weight was 16 344.48 u, and the theoretical isoelectric point was 5.08. *JreIF1A* shared close evolution relationship with the eIFs from *Cephalotus follicularis* and *Populus trichocarpa*. *JreIF1A* could be significantly induced by drought stress, and had expression specificity in roots and leaves. *JreIF1A* was transferred into yeast, and transgenic yeast INVSC1(pYES2-*JreIF1A*) and control yeast INVSC1 (pYES2) were subjected to drought (sorbitol, 0.2 mol/L) stress, from which it was found that the growth activity of INVSC1(pYES2-*JreIF1A*) was significantly better than INVSC1(pYES2) under drought stress. These results indicated that *JreIF1A* gene could respond to drought stress, and its expression could effectively improve the drought stress response ability of transgenic yeast. *JreIF1A* gene can be used as a candidate gene for walnut stress adaptation mechanism.

收稿日期:2019-03-26 修回日期:2019-06-02

基金项目:中央财政林业科技推广项目“千阳核桃综合配套丰产栽培技术示范与推广”(SLTG[2016]14号);陕西省自然科学基金研究计划项目(2018JQ3066)。

作者简介:任得元,男,高级工程师,研究方向:林业与技术推广。E-mail:Rdy123@163.com

*通信作者:杨桂燕,女,讲师,研究方向:林木遗传育种。E-mail:yang861026@163.com

Key words: *Juglans regia*; eukaryotic translation initiation factor; *eIF1A* gene; stress response; yeast transformation

核桃(*Juglans regia*)是世界著名的坚果树木,分布广泛,目前属于我国不少地区攻克扶贫问题的选择树种。可见,核桃产业对推动农村等区块经济的发展有积极作用。但核桃也会面临气候、土壤等众多环境因子的影响,核桃产业的提质增效亟待进行^[1-3]。核桃提质增效的关键在于品种的选择及科学的管理,而这前提则是对核桃的逆境适应机制充分了解。目前,对核桃的逆境响应机制方面的研究报道较少,特别是分子机制,核桃逆境响应相关基因资源的挖掘远远不够。因此,深入挖掘核桃抗逆相关基因,研究其逆境响应能力,能为深入掌握核桃逆境适应分子机制打下基础。在前期研究中,筛选鉴定了一些核桃逆境响应候选基因,包括 WRKY 转录因子^[4]、WD40 转录因子^[5]、谷胱甘肽转移酶(GST)^[6]、热激蛋白(HSP)^[7]、真核翻译起始因子(eIF)等。其中有关翻译起始因子的研究尚未报道。

真核翻译起始因子(eukaryotic translation initiation factor, eIF)是真核生物翻译过程中一类既独立又可相互作用的包含 eIF1-6 等 6 个亚家族的蛋白质家族^[8-11]。近年,随着对植物逆境响应机制的深入研究,关于 eIF 参与植株逆境响应的报道逐渐增多。如甘蒙柃柳(*Tamarix androssowii*)*eIF5A* 能积极响应盐、脱落酸等胁迫高表达,将其过表达可显著改善转基因植株的耐盐性,且这个过程受上游调控因子 TaWRKY 和 TaRAV 的调控^[12]。刚毛柃柳(*Tamarix hispida*)*TheIF1A* 能被盐和干旱显著诱导,将其转入烟草过量表达能显著提高植株的抗旱耐盐性^[13]。小麦(*Triticum aestivum*)*eIF3g* 转入酵母和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)可有效改善转基因酵母和拟南芥的抗旱功能^[14]。可见,*eIF* 家族基因在核桃逆境响应中可能会起到重要作用。因此,对核桃 *eIF1A* 基因(*JreIF1A*)在干旱胁迫下的表达及转入酵母中的功能进行研究,探明 *JreIF1A* 在核桃干旱响应中的功能,为核桃响应不良环境因子的适应机制打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

2 年生‘香玲’核桃嫁接苗用作该研究的试验材料。用 20% PEG₆₀₀₀ 浇灌根部对核桃进行 0(为对照)、6、12、24、48 h 处理后分别取根、叶超低温保存备用。处理期间保证浇灌的 PEG₆₀₀₀ 足以使植株处于渗透胁迫中。每个时间点植株包含 9 个植株。

1.2 *JreIF1A* 基因的克隆及基本特征分析

用“eukaryotic translation initiation factor (eIF1)”在‘香玲’转录组(未发表)中查找基因,经 Blast 比对分析获得若干 *eIF1* 基因,其中一条为 1A 成员(命名为 *JreIF1A*)。*JreIF1A* 的开放读码框(ORF)用 ORF finder 分析,*JreIF1A* 的序列特征利用 Expasy ProtParam 分析。*JreIF1A* 蛋白的同源序列用 BLASTP 进行搜索,并使用 Clustal 3.0 构建其进化树。

1.3 *JreIF1A* 基因在干旱处理下的表达

各样品总 RNA 分别采用 CTAB 法提取后用 DNA 消化酶消化,根据康为世纪(CWBIO,中国)生产的反转录试剂盒(PrimeScript™ RT reagent Kit)将纯化后的 RNA 反转录为 cDNA,稀释 10 倍用作定量表达(qRT-PCR)分析的模板。*JreIF1A* 基因的 qRT-PCR 引物 *JreIF1A*-DL-F/R 见表 1。qRT-PCR 反应体系根据 CWBIO 生产的试剂盒‘SYBR Green Real time PCR Master mix’制备。反应程序为:94℃/30 s;94℃/12 s,60℃/45 s,72℃/45 s,45 个循环;81℃/1 s。qRT-PCR 反应在 Applied Biosystems 生产的 StepOne™ Real-Time PCR System 进行。每个样品重复 3 次。18S rRNA 为内参基因(引物为 F: 5'-GGTCAATCTTCTCGTTCCTT-3'; R: 5'-TCGCATTTCGCTACGTTCTT-3')。qRT-PCR 结果用 2^{-ΔΔCt} 法分析^[15],表示相对于 18S rRNA 及 0 h 的表达值。

1.4 *JreIF1A* 转基因酵母的抗逆功能

基于 *JreIF1A* 基因及 pYES2 载体特征设计构建酵母表达载体的引物 *JreIF1A*-JM-F/R(表 1),PCR 扩增获得 *JreIF1A* 序列并酶切,同时对 pYES2 载体进行酶切,再用 T4 DNA 连接酶将酶切后的 *JreIF1A* 与 pYES2 连接,获得重组载体 *pYES2::JreIF1A*。用醋酸锂法^[16]将 *pYES2::JreIF1A* 和空载体 *pYES2* 分别转入酵母株系 INVSC1,分别记为 INVSC1(*pYES2::JreIF1A*)与 INVSC1(*pYES2*)(对照)。INVSC1(*pYES2::JreIF1A*)与 INVSC1(*pYES2*)分别用液体培养基‘在 30℃、185 r·min⁻¹ 条件下培养至 OD₆₀₀ = 1.7,再分别收集 INVSC1(*pYES2::JreIF1A*)与 INVSC1(*pYES2*)菌体进行山梨醇处理:将相同量的 INVSC1(*pYES2::JreIF1A*)与 INVSC1(*pYES2*)分别置于含 0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol·L⁻¹ 山梨醇的‘SC-Ura/+2% 葡萄糖’培养基中,30℃,

185 r · min⁻¹ 培养 24 h 后测定 NVSC1(*pYES2*::*JreIF1A*)与 INVSC1(*pYES2*)的 OD₆₀₀ 值。独立重复 3 次试验。

1.5 数据分析

用 SPSS(SPSS,Chicago,Illinois,USA)分析数

据。样品变异性使用标准偏差表示,不同处理时间点之间的差异用 Tukey 进行多重比较,INVSC1(*pYES2*::*JreIF1A*)与 INVSC1(*pYES2*)在相同处理下的差异用 T 检验进行分析。显著性水平为 $P<0.05$ 。

表 1 qRT-PCR 试验分析及构建酵母表达载体相关引物

Table 1 The related primers for qRT-PCR analysis and construction of yeast expression vector

引物名称	正向引物	反向引物
JreIF1A-DL-F/R	5'-ATGCCGAAGAACAAGGGT-3'	5'-TGAGTCCACGAGGATGAT-3'
JreIF1A-JM-F/R	5'-ATCGGGTACCATGCCGAAGAACAAGGGTAAGG-3'	5'-CGATTCTAGATTAGATCTTATCAATATCCTCG-3'

2 结果与分析

2.1 *JreIF1A* 基因的 cDNA 序列及特征

以‘香玲’cDNA 为模板,经 PCR 法克隆获得 *JreIF1A* 基因,其 ORF 长 438 bp(图 1A),分子量为 16 344.48 Da,编码的多肽含氨基酸 145 个(图

1B),其理论等电点为 5.08。对 *JreIF1A* 蛋白构建进化树,发现 *JreIF1A* 蛋白与土瓶草(*Cephalotus follicularis*)、毛果杨(*Populus trichocarpa*)等的 eIF1A 进化关系较近(图 2),推测 *JreIF1A* 蛋白与这些同源蛋白具有相似功能。



图 1 *JreIF1A* 基因(A)及蛋白(B)序列

Fig.1 The *JreIF1A* gene (A) and protein (B) sequence

2.2 *JreIF1A* 基因在干旱处理下的转录

对‘香玲’幼苗进行 0、3、6、12、24、48 h 的 PEG₆₀₀₀处理,用 qRT-PCR 方法分析各处理下‘香玲’根、叶中的 *JreIF1A* 基因的转录水平。结果显示,在不同时间的 PEG₆₀₀₀处理下,*JreIF1A* 基因的转录水平较 0 h 明显升高,且在根和叶均呈现倒 V 字形变化,但 *JreIF1A* 基因在根和叶中的具体变化也存在一定差异,在叶中,最大值出现在 24 h,为对照的 43.11 倍;而在根中的最大转录水平出现在 6 h,为对照的 9.47 倍,二者相差近 5 倍。且叶中 *JreIF1A* 基因的转录水平整体高于根中 *JreIF1A* 基因的转录水平(12~48 h)(图 3)。

2.3 转 *JreIF1A* 基因酵母的抗旱表现

将 INVSC1(*pYES2*::*JreIF1A*)、INVSC1(*pYES2*)菌种分别划线培养在固体 SC-Ura(+2%葡萄糖),待长出单克隆,分别挑取 3 个单克隆接种于 SC-Ura 液体培养基(+2%葡萄糖)中,30℃,185

rpm 培养至 OD₆₀₀ = 1.7。分别收集相同量的 INVSC1(*pYES2*::*JreIF1A*)、INVSC1(*pYES2*)进行 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 M 山梨醇处理。结果显示,在对照条件下,OD₆₀₀ [INVSC1(*pYES2*::*JreIF1A*)]与 OD₆₀₀ [INVSC1(*pYES2*)]差异不大。在甘露醇胁迫下,OD₆₀₀ [INVSC1(*pYES2*::*JreIF1A*)]与 OD₆₀₀ [INVSC1(*pYES2*)]均比对照下降,但 OD₆₀₀ [INVSC1(*pYES2*::*JreIF1A*)]高于 OD₆₀₀ [INVSC1(*pYES2*)](图 4),说明干旱胁迫让酵母的生长力遭受损害,但这种损害程度在 *JreIF1A* 基因的表达下得到了改善,表明 *JreIF1A* 基因的表达显著改善了酵母的抗旱性。

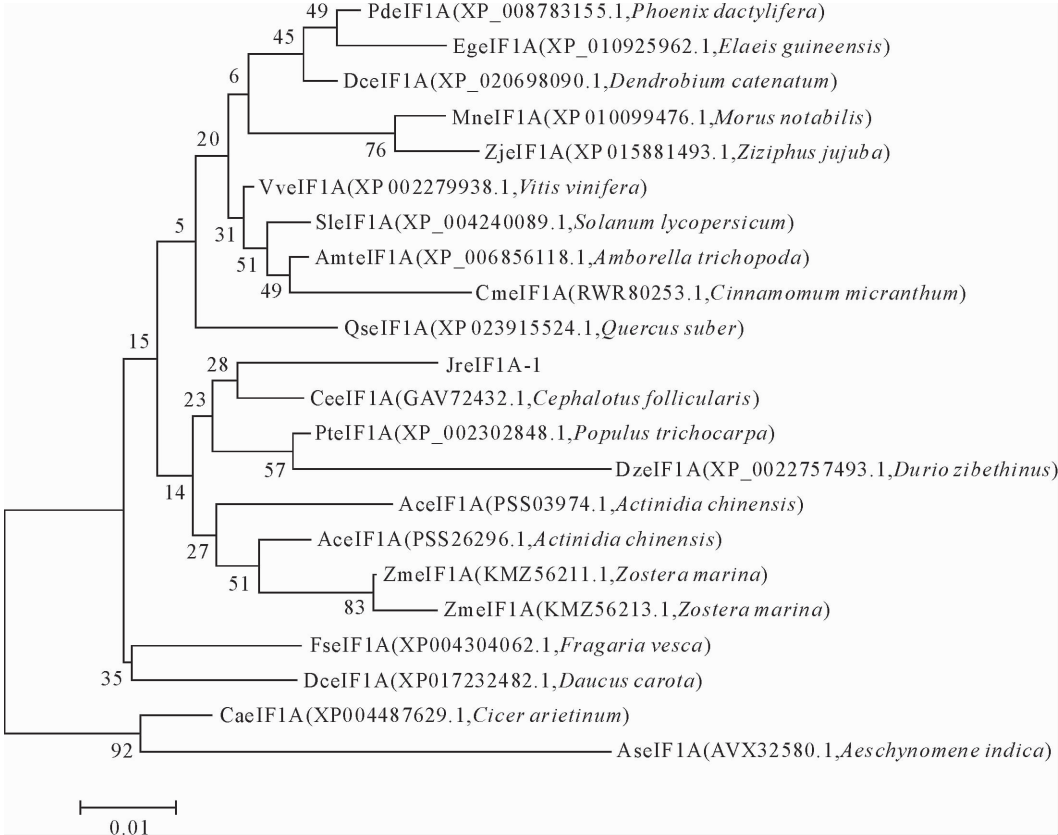
3 结论与讨论

3.1 结论

核桃翻译起始因子 *JreIF1A* 基因 ORF 长 438 bp,编码的多肽含 145 个氨基酸,分子量为

16 344.48 u, 理论等电点为 5.08。在进化上 *JreIF1A* 与土瓶草、毛果杨等具有较近的亲缘关系。在不同时间的干旱处理后, *JreIF1A* 基因在核桃的根和叶中被不同程度的诱导表达, 表明 *JreIF1A* 基因对于干旱胁迫具有积极响应, 并具有时序性。同时,

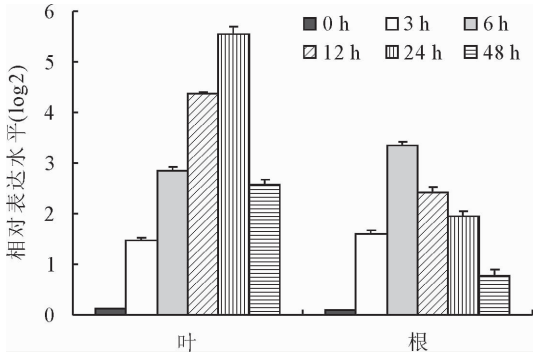
JreIF1A 基因在根和叶中的表达水平及变化趋势具有差异, 表明 *JreIF1A* 基因响应干旱胁迫具有组织特异性。将 *JreIF1A* 基因转入酵母可有显著改善植株在干旱胁迫下的生长活性, 表明 *JreIF1A* 基因是核桃干旱响应的重要候选基因。



注: 标尺表示各 eIF1 蛋白之间的差异; 数值表示同一分支上 eIF1 蛋白的相关性; 各 eIF1 蛋白名称后为 GeneBank 号及来源种。CeeIF1A, 土瓶草 (*Cephalotus follicularis*); PteIF1A, 毛果杨 (*Populus trichocarpa*); QseIF1A, 栓皮栎 (*Quercus suber*); MneIF1A, 川桑 (*Morus notabilis*); DceIF1A, 石斛兰 (*Dendrobium catenatum*); VveIF1A, 葡萄 (*Vitis vinifera*); ZmeIF1A, 甘藷 (*Zostera marina*); PdeIF1A, 刺葵 (*Phoenix dactylifera*); ZjeIF1A, 枣 (*Ziziphus jujuba*); EgeIF1A, 油棕 (*Elaeis guineensis*); AmtelIF1A, 无油樟 (*Amborella trichopoda*); SleIF1A, 番茄 (*Solanum lycopersicum*); FseIF1A, 草莓 (*Fragaria vesca*); AceIF1A, 猕猴桃 (*Actinidia chinensis*); DzeIF1A, 榴莲 (*Durio zibethinus*); DceIF1A, 胡萝卜 (*Daucus carota*); CmeIF1A, 桂皮 (*Cinnamomum micranthum*); CaeIF1A, 鹰嘴豆 (*Cicer arietinum*); AseIF1A, 田皂角 (*Aeschynomene indica*)。

图 2 *JreIF1A* 蛋白的进化分析

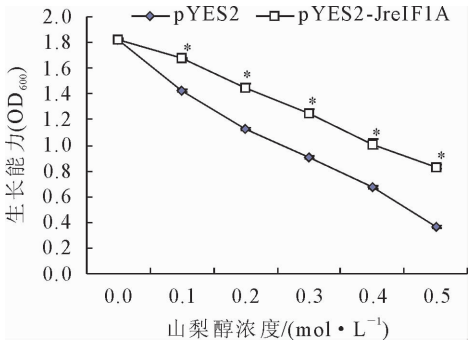
Fig. 2 Phylogenetic analysis of *JreIF1A* protein



注: 0 h 为对照。误差来自于 qRT-PCR 的 3 次重复。

图 3 干旱处理下 *JreIF1A* 基因的表达

Fig. 3 The transcription of *JreIF1A* gene under drought treatment



注: * 表示在相同处理下 INVSC1 (*pYES2::JreIF1A*) 与 INVSC1 (*pYES2*) 的 OD₆₀₀ 的差异显著性 ($P < 0.05$)。

图 4 转 *JreIF1A* 基因酵母在甘露醇胁迫下的生长

Fig. 4 The growth of *JreIF1A* transgenic yeast under mannitol stress

3.2 讨论

植物对环境因子等的适应根本与其基因功能相关。因此,鉴定干旱等不良环境因子响应相关的基因进行逆境响应研究对核桃产业的综合改善具有重要指导意义。有研究表明,eIF1类翻译起始因子能对不同逆境做出积极响应,如甜菜(*Beta vulgaris*) *BveIF1A* 不仅部分补充了酵母 *eIF1A* 缺陷菌株而且还增加了 *BveIF1A* 转基因拟南芥植物的 NaCl 耐受性^[17]。羊草(*Leymus chinensis*) eIF1 可作为其响应盐胁迫的分子靶标^[18]。因此,在筛选核桃逆境响应相关基因时,对 eIF1 类基因进行了重点筛查。本研究对筛选获得的 *JreIF1A* 进行分析,发现该蛋白在进化上与土瓶草、毛果杨的 eIF1A 蛋白相近,推测其可能与这些蛋白具有相似功能。

基因在逆境下的表达水平往往可有效预测基因的相关功能。如,通过分析核桃 *JrsHSP17.3* 基因在异常温度及盐胁迫下的表达预测其对高温、低温、NaCl 胁迫有积极作用^[18],继而将 *JrsHSP17.3* 基因转入酵母 INVSC1,或者瞬时转入核桃植株,分析转化酵母或核桃植株的抗逆性,发现 *JrsHSP17.3* 转化株表现出较对照更强的抗异常温度及 NaCl 的能力^[7]。核桃 *JrGSTTau1* 基因能响应低温、干旱、盐胁迫高水平表达,将其转入酵母和烟草中可有效提高转基因株系的抗逆性^[6,20-21]。*TheIF1A* 对盐胁迫和干旱处理的响应也与 *JrGSTTau1*、*JrsHSP17.3* 的情况相似^[13]。因此,为了快速高效地预测 *JreIF1A* 基因响应干旱胁迫的功能,对核桃进行不同时间的 PEG₆₀₀₀ 处理后在根、叶中分别进行表达分析,结果发现 *JreIF1A* 基因能被干旱显著诱导,且具有组织差异性(图3)。表明逆境响应相关基因的时空表达及组织表达特异性普遍存在,*JreIF1A* 基因在干旱胁迫下的诱导与干旱功能改善具有重要关系。

为进一步了解 *JreIF1A* 基因的抗旱功能,将其构建酵母表达载体并转入酵母中获得重组酵母 INVSC1(*pYES2::JreIF1A*),通过与对照酵母 INVSC1(*pYES2*) 在干旱下的生长进行比较,发现 *JreIF1A* 转基因酵母 INVSC1(*pYES2::JreIF1A*) 的生长活性显著优于 INVSC1(*pYES2*) (图4)。这与其他诸多利用酵母表达系统研究的基因功能相似,如在酿酒酵母中异源表达分析显示小桐子(*Jatropha curcas*) *JcLEA4* 的过表达提高了转基因酵母对 PEG 模拟干旱胁迫的存活率和生长速率^[22]。在酵母总过量表达星星草(*Puccinellia tenuiflora*) 液泡型 H⁺-ATP 酶 c 亚基基因(*PutVHA-c*) 有效提高了转基因酵母的耐盐性^[23]。*JrGSTTau1*^[20]、*Jr-*

sHSP17.3^[19]、二色补血草(*Limonium bicolor*) *Lb-DREB* 基因^[24]等基因在酿酒酵母中的表达也验证了其逆境响应功能。由此可见,*JreIF1A* 基因能积极响应干旱胁迫应答,其表达能有效改善植株的抗旱性,*JreIF1A* 基因可作为核桃逆境适应机制研究的重要候选基因。在后续研究中,将构建 *JreIF1A* 基因的植物表达载体并转入植株过量表达,研究 *JreIF1A* 基因的抗旱功能。

参考文献:

- [1] YANG G,GAO X,MA K,*et al.* The walnut transcription factor *JrGRAS2* contributes to high temperature stress tolerance involving in Dof transcriptional regulation and HSP protein expression[J]. BMC Plant Biology,2018,18(1):1518-1568.
- [2] XU Z,ZHAO Y,YU G,*et al.* Characterization of a vacuolar H⁺-ATPase G subunit gene from *Juglans regia* (*JrVHAG1*) involved in mannitol-induced osmotic stress tolerance[J]. Plant Cell Reports,2017,36(3):407-418.
- [3] 刘杜玲,张博勇,彭少兵,等. 氮磷钾配方施肥对核桃产量和品质指标的影响[J]. 西北林学院学报,2018,33(6):113-117.
LIU DULING,ZHANG BOYONG,PENG SHAOBING,*et al.* Effects of nitrogen,phosphorus and potassium formula fertilizers on the yield and quality of walnut fruit[J]. Journal of Northwest Forestry Univsercity,2018,33(6):113-117. (in Chinese)
- [4] YANG G,ZHANG W,LIU Z,*et al.* Both *JrWRKY2* and *JrWRKY7* of *Juglans regia* mediate responses to abiotic stresses and abscisic acid through formation of homodimers and interaction[J]. Plant Biology (Stuttgart,Germany),2017,19(2):268-278.
- [5] 陈淑雯,郝茜珣,贾彩霞,等. 核桃 WD40 转录因子 *JrATG18a* 基因的克隆及逆境响应[J]. 植物遗传资源学报,2018,19(5):979-986.
CHEN S W,HAO X X,JIA C X,*et al.* Identification and stress response analysis of a WD40 transcription factor *JrATG18a* gene from *Juglans regia*[J]. Chinese Journal of Plant Genetic Resources,2018,19(5):979-986. (in Chinese)
- [6] YANG G,CHEN S,LI D,*et al.* Multiple transcriptional regulation of walnut *JrGSTTau1* gene in response to osmotic stress[J]. Physiologia Plantarum,2019,166(3):748-761.
- [7] ZHAI M,SUN Y,JIA C,*et al.* Over-expression of *JrsHSP17.3* gene from *Juglans regia* confer the tolerance to abnormal temperature and NaCl stresses[J]. Journal of Plant Biology,2016,59(5):549-558.
- [8] OSTERMAN I A,EVFRATOV S A,DZAMA M M,*et al.* A bacterial homologue YciH of eukaryotic translation initiation factor eIF1 regulates stress-related gene expression and is unlikely to be involved in translation initiation fidelity[J]. RNA Biology,2015.
- [9] XIA C,WANG Y,LI W,*et al.* The Arabidopsis eukaryotic translation initiation factor 3, subunit F (*AteIF3f*), is required for pollen germination and embryogenesis[J]. The Plant Journal,2010,63(2):189-202.

[10] PASSMORE L A, SCHMEING T M, MAAG D, *et al.* The Eukaryotic translation initiation factors eIF1 and eIF1A induce an open conformation of the 40S ribosome[J]. *Molecular Cell*, 2007, 26(1): 41-50.

[11] PTUSHKINA M, MALYS N, MCCARTHY J E. eIF4E isoform 2 in *Schizosaccharomyces pombe* is a novel stress-response factor[J]. *EMBO Reports*, 2004, 5(3): 311-316.

[12] WANG L, XU C, WANG C, *et al.* Characterization of a eukaryotic translation initiation factor 5A homolog from *Tamarix androssowii* involved in plant abiotic stress tolerance[J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12(1): 118.

[13] YANG G, YU L, WANG Y, *et al.* The translation initiation factor 1A (*TheIF1A*) from *Tamarix hispida* is regulated by a Dof transcription factor and increased abiotic stress tolerance[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8(513).

[14] SINGH B, CHAUHAN H, KHURANA J, *et al.* Evidence for the role of wheat eukaryotic translation initiation factor 3 subunit g (*TaeIF3g*) in abiotic stress tolerance[J]. *Gene*, 2013, 532(2): 177-185.

[15] LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. *Methods (San Diego, Calif.)*, 2001, 25(4): 402-408.

[16] GAO C, JIANG B, WANG Y, *et al.* Overexpression of a heat shock protein (*ThHSP18.3*) from *Tamarix hispida* confers stress tolerance to yeast [J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39(4): 4889-4897.

[17] RAUSELL A, KANHONOU R, YENUSH L, *et al.* The translation initiation factor eIF1A is an important determinant in the tolerance to NaCl stress in yeast and plants[J]. *The Plant Journal*, 2003, 34(3): 257-267.

[18] SUN Y L, HONG S K. Sensitivity of translation initiation factor eIF1 as a molecular target of salt toxicity to sodic-alkaline stress in the halophytic grass *Leymus chinensis*[J]. *Biochemical Genetics*, 2013, 51(1-2): 101-118.

[19] 杨桂燕, 贾彩霞, 孙宇栋, 等. 核桃 *JrsHSP17.3* 基因克隆及温度胁迫响应模式分析[J]. *西北植物学报*, 2015, 35(9): 1752-1756.

YANG G Y, JIA C X, SUN Y D, *et al.* *JrsHSP17.3* cloning from *Juglans regia* and its expression profiles in response to temperature stresses[J]. *Acta Bot. Boreali-Occidentalia Sin.*, 2015, 35(9): 1752-1756. (in Chinese)

[20] 栗莉圆, 李大培, 常远, 等. 核桃 *JrGSTTau1* 基因的克隆及转入酵母的抗逆功能分析[J]. *西北林学院学报*, 2016, 31(3): 98-102.

SU L Y, LI D P, CHANG Y, *et al.* Cloning and stress tolerance analysis of a *JrGSTTau1* gene from *Juglans regia* in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2016, 31(3): 98-102. (in Chinese)

[21] YANG G, XU Z, PENG S, *et al.* In planta characterization of a tau class glutathione S-transferase gene from *Juglans regia* (*JrGSTTau1*) involved in chilling tolerance[J]. *Plant Cell Reports*, 2016, 35(3): 681-92.

[22] 张博, 王莎莎, 王君珂, 等. 小桐子 *JcLEA4* 基因克隆及表达和功能分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(8): 3473-3481.

ZHANG B, WANG S, WANG J, *et al.* Cloning, expression and functional analysis of *JeLEA4* gene from *Jatropha curcas* [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37(8): 3473-3481. (in Chinese)

[23] 周爱民, 卜媛媛, 张欣欣, 等. 过量表达星星草 (*Puccinellia tenuiflora*) 液泡型 H⁺-ATP 酶 c 亚基因提高转基因酵母的耐盐性[J]. *分子植物育种*, 2015, 13(2): 409-414.

ZHOU A M, BU Y Y, ZHANG X X, *et al.* Overexpression of a V-ATPase subunit c gene from *Puccinellia tenuiflora* (*PutVHA-c*) enhances tolerance to salt stress in yeast [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13(2): 409-414. (in Chinese)

[24] 王留强, 班巧英, 贺琳, 等. 二色补血草 *LbDREB* 基因在酵母中的抗逆性分析[J]. *植物生理学报*, 2011, 47(4): 347-350.

WANG L Q, BAN Q Y, HE L, *et al.* Stress tolerance analysis of *LbDREB* gene from *Limonium bicolor* Kuntze in yeast[J]. *Plant Physiology Journal*, 2011, 47(4): 347-350. (in Chinese)