

闻 甜, 陈祥龙, 武晓刚, 等. 过表达番茄 *LeDnaJ* 基因提高陆地棉( *Gossypium hirsutum* Linn.) R15 的耐盐性[J]. 江苏农业学报, 2020, 36( 2 ): 271-276.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.02.003

## 过表达番茄 *LeDnaJ* 基因提高陆地棉( *Gossypium hirsutum* Linn.) R15 的耐盐性

闻 甜<sup>1</sup>, 陈祥龙<sup>1</sup>, 武晓刚<sup>1</sup>, 权永刚<sup>1</sup>, 徐 鹏<sup>2</sup>, 郭 琪<sup>2</sup>, 倪万潮<sup>2</sup>, 陈爱民<sup>1</sup>

(1. 九圣禾种业股份有限公司/农业农村部西北内陆棉花品种创制重点实验室, 新疆 昌吉 831100; 2. 江苏省农业科学院经济作物研究所/农业农村部长江下游棉花油菜重点实验室, 江苏 南京 210014)

**摘要:** DnaJ 蛋白不仅在生物体应对热激胁迫方面起作用, 而且能响应盐、重金属和氧化等多种胁迫, 因此, DnaJ 蛋白的相关研究对植物抗逆研究具有重要意义。在前期的研究中, 笔者所在课题组已经利用电子克隆及逆转录-聚合酶链式反应( RT-PCR) 的方法从番茄中克隆了全长为 465 bp 的热激蛋白基因 *LeDnaJ*。为了进一步验证其功能, 针对 *LeDnaJ* 基因构建了含有 35S 启动子及 NOS 终止子的植物表达载体, 通过农杆菌介导法转化到陆地棉( *Gossypium hirsutum* Linn.) 品系 R15 中。目的基因的 PCR 检测结果表明, *LeDnaJ* 基因已经整合到陆地棉 R15 基因组中; 耐盐性鉴定结果表明, *LeDnaJ* 基因的表达, 提高了陆地棉 R15 萌发期、苗期的耐盐性。该研究结果为棉花耐盐性的改良提供了新的基因资源。

**关键词:** 陆地棉; *LeDnaJ* 基因; 过表达; 耐盐性

**中图分类号:** S332.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440( 2020) 02-0271-06

## Investigation on the improvement of salt tolerance in *Gossypium hirsutum* Linn. R15 through overexpression of tomato *LeDnaJ* gene

WEN Tian<sup>1</sup>, CHEN Xiang-long<sup>1</sup>, WU Xiao-gang<sup>1</sup>, QUAN Yong-gang<sup>1</sup>, XU Peng<sup>2</sup>, GUO Qi<sup>2</sup>, NI Wan-chao<sup>2</sup>, CHEN Ai-min<sup>1</sup>

(1. Join Hope Seeds Co., Ltd./Key Laboratory for the Creation of Cotton Varieties in the Northwest, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Changji 831100, China; 2. Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Cotton and Rapeseed, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** DnaJ protein not only plays a role in the response of organisms to heat shock stress, but also responds to various stresses such as salt, heavy metals and oxidation, so the related researches are of great significance to stress resistance investigations in plants. The heat shock protein gene *LeDnaJ* with a whole length of 465 bp was cloned from tomato by

收稿日期: 2019-11-21

基金项目: 国家转基因生物新品种培育科技重大专项( 2018ZX08009-15B)

作者简介: 闻 甜( 1987- ), 女, 新疆昌吉人, 本科, 助理农艺师, 主要从事棉花遗传育种研究。( E-mail ) wentian87210@ 126.com

通讯作者: 陈爱民, ( E-mail ) chamin0208@ 126.com

the methods of electronic cloning and reverse transcription-polymerase chain reaction ( RT-PCR ) in the previous studies. In order to verify the functions of *LeDnaJ* gene, the plant expression vector containing *LeDnaJ* gene with NOS terminator and 35S promoter was constructed and transformed into *Gossypium hirsutum* Linn. R15 by *Agrobacterium*-mediated method. The PCR detection result

of the target gene showed that the *LeDnaJ* gene had been integrated into the cotton genome. The results of salt tolerance identification indicated that the expression of *LeDnaJ* gene improved the salt tolerance of *Gossypium hirsutum* Linn. R15 at germination and seedling stages. These results provide new genetic resources for the improvement of salt tolerance in cotton.

**Key words:** *Gossypium hirsutum* Linn.; *LeDnaJ* gene; overexpression; salt tolerance

DnaJ 蛋白是首次从大肠杆菌中分离出来的一种 41 000 大小的热激蛋白 (Heat shock protein, HSP), 又名 HSP40<sup>[1]</sup>。热激蛋白是植物为了适应不断变化的逆境胁迫而诱导自身产生的一种具有抵御作用蛋白质。作为 HSP70 蛋白的辅助伴侣蛋白, DnaJ 蛋白由腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP) 为 HSP70 蛋白供能, 并引导蛋白质的正确组装和折叠。HSP70 蛋白本身并不直接参与新生多肽底物的结合, 其功能的行使必须依赖能与其特异性结合的 DnaJ 蛋白。DnaJ 蛋白结构复杂, 在通常情况下含有 3 个保守的结构域, 分别是位于 N 端的核心结构域为组氨酸/脯氨酸/天冬氨酸三肽的 J 结构域、富含甘氨酸 (G) 和苯丙氨酸 (F) 的 G/F 结构域和含有 4 个 Cys-X-X-Cys-X-Gly-X-Gly (Cys 为半胱氨酸, Gly 为甘氨酸, X 为任意氨基酸) 基序的锌指结构域<sup>[2]</sup>。根据结构域的种类, DnaJ 蛋白家族成员可以分为以下 3 类: 第 1 类, 同时含有 J 结构域、G/F 结构域及锌指结构域; 第 2 类, 含有 J 结构域及 G/F 结构域或锌指结构域中的 1 个; 第 3 类, 只含有 J 结构域<sup>[3]</sup>。以上 3 类蛋白家族成员都具有与 HSP70 蛋白直接作用的 J 结构域。

DnaJ 蛋白在响应许多生物及非生物胁迫的过程中起着重要作用。植物中的 DnaJ 可以响应很多诱导因素, 如重金属、高温、冷害、干旱、盐碱及病原菌等。另外, DnaJ 蛋白基因的表达有组织特异性, 并受生物发育阶段的调节。尽管目前人们已经从拟南芥<sup>[4]</sup>、报春花<sup>[5]</sup>、苜蓿<sup>[6]</sup>等植物中获得了 DnaJ 蛋白, 但是关于植物中 DnaJ 蛋白的研究仍远远滞后于人类、动物及细菌中 DnaJ 蛋白的相关研究。在前期的研究中, 笔者电子克隆了番茄 *LeDnaJ* 基因的全长。为了进一步验证其功能, 笔者构建了含有 35S 启动子及 NOS 终止子的植物表达载体, 通过农杆菌介导法将 *LeDnaJ* 基因转化到陆地棉 (*Gossypium hirsutum* Linn.) 品系 R15 中, 经过目的基因的 PCR 检测, 获得阳性转 *LeDnaJ* 基因棉花株系, 进一步分析该基因在盐胁迫下的功能, 从而为棉花耐盐性的改良提供新的基因资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

本研究的供试番茄材料为 MoneyMaker, 由江苏省农业科学院蔬菜研究所提供; 转基因棉花受体材料为陆地棉 R15, 是由晋棉 7 号多代再生选育出的胚胎发生纯合系, 由山西省农业科学院棉花研究所提供。采用天根生化科技 (北京) 有限公司的试剂盒提取番茄总 RNA, 再用 DNA 酶去除其中的 gDNA, 然后用 M-MLV (莫洛尼鼠白血病病毒) 反转录酶反转录合成 cDNA 第一链。

### 1.2 植物表达载体的构建

在 *LeDnaJ* 基因的上、下游设计 1 对带有 *Bam*H I、*Kpn* I 酶切位点的特异引物 (*LeDnaJ*-F-*Bam*H I: 5'-CGGGATCCATGGCTTCTCTCTCTTTCTCTCTC-3'; *LeDnaJ*-R-*Kpn* I: 5'-GGGTACCCTACCAACACTGATCGGTTTCCCATC-3', 引物中的下划线表示酶切位点), 将逆转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR) 产物连接到经 *Bam*H I、*Kpn* I 双酶切处理的 pCAMBIA2301 载体上, 构建 pCAMBIA2301-CaMV35S-*LeDnaJ* 植物表达载体。用热激法将 PCR 和酶切鉴定验证正确的重组质粒转入农杆菌菌株 EHA105 感受态细胞中, 获得工程农杆菌 EHA105 用于下一步的遗传转化。

### 1.3 农杆菌介导的棉花遗传转化及阳性植株的鉴定

通过农杆菌介导的遗传转化方法<sup>[7]</sup>将 pCAMBIA2301-CaMV35S-*LeDnaJ* 转化到受体棉花 R15 中。用特异性引物 *LeDnaJ*-F 和 *LeDnaJ*-R 进行 PCR 扩增, 以筛选阳性植株。进一步提取 PCR 检测结果呈阳性植株的 RNA, 以反转录生成的 cDNA 为模板, 以 *LeDnaJ*-RT-F (5'-CTCTACAATCGCCTCACATACA-3')、*LeDnaJ*-RT-R (5'-TTCCCATCCTCGGCGAACAGTA-3') 为引物进行 RT-PCR 扩增, 分析目的基因的表达水平。

### 1.4 萌发期和苗期棉花耐盐性表型的鉴定

先用体积分数为 30% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对棉花种子消毒 2~3 h, 再用 ddH<sub>2</sub>O 清洗 3~5 次。萌发期发芽率的测定方法: 将棉花种子置于含有 200 mmol/L NaCl 的玻

璃培养皿中,重复 3 次,每个重复设 50 粒种子,以蒸馏水处理作为空白对照(CK),将玻璃培养皿置于温度为  $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、相对湿度为  $80\% \pm 2\%$  的无光照环境中进行催芽,以种子露白部分超过 5 mm 视为种子发芽,7 d 后统计种子的发芽数量。计算公式:种子萌发率=露白部分超过 5 mm 的种子数/种子总数 $\times 100\%$ 。萌发期根长的测定:将棉花种子置于含有 200 mmol/L NaCl 的固体 MS 培养基上进行培养,每个材料设 3 个重复,每个重复设 50 粒种子,种子发芽(露白部分 $>5$  mm)后,测量种子的根系长度(cm)。

将预先发芽的转基因株系及其对照 R15 种子播于一次性纸杯中,置于温度为  $28^\circ\text{C}$ 、光照时间为 16 h/d 的房间内进行培养。待植株长至 2 叶 1 心期时开始进行盐处理,分别用 350 mmol/L NaCl 和清水各处理 10 株幼苗,同时,另取生长一致的 10 株幼苗,测量处理前植株的株高、地上部鲜质量和地上部干质量等。处理 30 d 后分别测定 350 mmol/L NaCl 和清水处理植株的株高、地上部鲜质量、地上部干质量等。分别计算盐胁迫、清水处理植株培养 30 d 的生长量,以植株在清水中的生长量作为对照,计算植株在盐胁迫下的相对生长量,评价其耐盐性。

### 1.5 数据分析方法

用 *t* 检验测试组间平均值的差异,分析转基因材料与非转基因对照之间的表型是否存在差异。

## 2 结果与分析

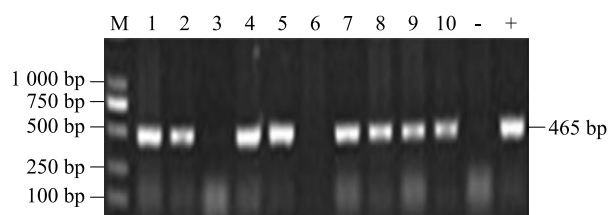
### 2.1 *LeDnaJ* 基因序列分析

在前期的研究中,笔者电子克隆了番茄的 *LeDnaJ* 基因,该基因序列全长 465 bp,GenBank 登录号为 EF208898.1。利用 DNASTar 等软件分析得出,该基因编码的蛋白质含有 155 个氨基酸,相对分子质量为 17 030,理论等电点为 10.49。通过美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)对蛋白质保守结构域进行分析,结果表明,*LeDnaJ* 基因编码的蛋白质仅在 N 端含有 1 个高度保守的长约 70 个氨基酸的 J-结构域,属于仅含有 1 个 J 结构域的第 3 类 DnaJ-like 蛋白家族成员。

### 2.2 转 *LeDnaJ* 基因棉花的鉴定结果

分别用 *Kpn* I、*Bam* H I 对 *LeDnaJ* 目的片段和载体质粒 pCambia2301-CaMV35S 进行双酶切,然后连接、转化,用引物 *LeDnaJ*-F、*LeDnaJ*-R 对转化后

得到的重组质粒 pCambia2301-CaMV35S-*LeDnaJ* 进行 PCR 扩增,得到 465 bp 大小的片段,与预期大小一致。经酶切鉴定及测序验证正确后,筛选出构建成功的植物表达载体 pCambia2301-CaMV35S-*LeDnaJ*。通过农杆菌介导的遗传转化方法,将 pCambia2301-CaMV35S-*LeDnaJ* 转化到受体棉花材料 R15 中,经过植物组织培养,得到  $T_0$  代植株。将  $T_0$  代转基因种子通过种植进行加代,提取  $T_1$  代植株叶片的 DNA,并进行 PCR 检测,获得 8 株 pCambia2301-CaMV35S-*LeDnaJ* 阳性单株(图 1)。

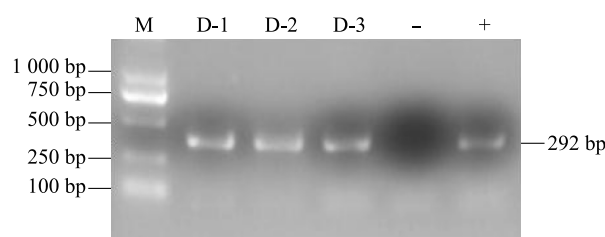


M:DL2000 marker;-:受体材料 R15;+:阳性质粒 pCambia2301-CaMV35S-*LeDnaJ*;1~10: $T_1$  代转基因阳性植株。

图 1 转 *LeDnaJ* 基因阳性植株的 PCR 鉴定结果

Fig.1 PCR identification results of *LeDnaJ* gene positive plants

为了进一步验证 *LeDnaJ* 基因整合到陆地棉基因组中后的表达情况,笔者从获得的 8 株阳性单株中选择 3 株提取 RNA 并将 RNA 反转录为 cDNA 进行 RT-PCR 验证。如图 2 所示,RT-PCR 鉴定结果验证了 3 株阳性单株中的 *LeDnaJ* 基因均能够正常表达。



M:DL2000 marker;-:R15;+:阳性质粒 pCambia2301-CaMV35S-*LeDnaJ*;D-1、D-2、D-3:3 个转基因阳性株系。

图 2 转 *LeDnaJ* 基因阳性植株的 RT-PCR 鉴定结果

Fig.2 RT-PCR identification results of *LeDnaJ* gene positive plants

### 2.3 转 *LeDnaJ* 基因棉花株系萌发期的耐盐性

在前期进行同源比对后发现,*LeDnaJ* 基因与 *AT2G17880* 基因同源,后者编码 DNA J protein C24。Sottosanto 等研究发现,*AT2G17880* 基因受到盐胁迫的诱导<sup>[8]</sup>。因此,本研究从表型上对转 *LeDnaJ* 基因棉

花株系后代在萌发期、苗期的耐盐性进行鉴定。经过连续自交,获得 3 个 *T<sub>5</sub>* 代转 *LeDnaJ* 基因棉花纯系后代,分别挑选 3 个转 *LeDnaJ* 基因棉花株系、受体材料 R15(对照)50 粒饱满的种子用于萌发期发芽率的测定。在第 7 d 统计棉花种子的发芽数量,从表 1 可以看出,盐胁迫下 3 个转基因棉花株系的相对发芽率均显著高于对照,因此认为,*LeDnaJ* 基因的表达提高了棉花 R15 种子在盐胁迫下的发芽率。

表 1 盐胁迫下 3 个转基因棉花株系及受体材料 R15(对照)在盐胁迫下的发芽情况

Table 1 Germination of three transgenic cotton lines and receptor material R15 (control) under salt stress

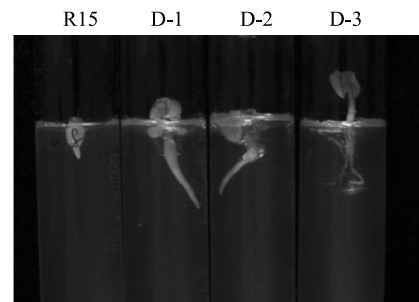
材料	发芽数(粒)		种子总数 (粒)	相对发芽率 (%)
	200 mmol/L NaCl 处理	清水处理		
D-1	20.7±1.2	41.3±1.2	50	50.12 *
D-2	19.3±0.9	41.7±1.8	50	46.28 *
D-3	19.0±1.5	39.0±1.5	50	48.72 *
R15	14.7±1.2	40.3±2.0	50	36.48

D-1、D-2、D-3 表示 3 个转基因棉花株系;发芽数为 3 次生物学重复的平均值±标准差;\*表示与受体材料 R15 相比,发芽率在 0.05 水平上差异显著( $P<0.05$ )。

本研究同时测量了 3 个转基因棉花株系及其受体材料 R15(对照)在盐胁迫下萌发期的根长。由图 3 可见,在含有 200 mmol/L NaCl 的 MS 培养基上催芽 3 d 后,对照的根系伸长受到了明显抑制,而 3 个转基因棉花株系的根系伸长相对正常,均明显高于对照。将盐胁迫下的棉花根长与清水处理的棉花根长的比值作为相对根长,由表 2 可知,D-1、D-2、D-3 这 3 个转基因株系的相对根长均极显著高于对照,说明 *LeDnaJ* 基因的表达提高了陆地棉 R15 萌发期的耐盐性。

#### 2.4 转 *LeDnaJ* 基因棉花株系苗期的耐盐性

待 3 个转 *LeDnaJ* 基因棉花植株长至 2 叶 1 心期时,分别用 350 mmol/L NaCl 和清水处理植株,30 d 后测定盐胁迫、清水处理植株的相关表型指标,从而鉴定转基因棉花株系苗期的耐盐性。由图 4 可见,处理 30 d 后盐胁迫下转基因棉花株系的株高明显高于其受体材料 R15(对照)。表 3 显示,3 个转基因棉花株系的相对株高、地上部分相对鲜质量和地上部分相对干质量均显著或极显著高于受体材料 R15(对照),表明 *LeDnaJ* 基因的表达提高了陆地棉 R15 苗期的耐盐性。



D-1、D-2、D-3:转基因棉花株系。

图 3 盐胁迫下转基因棉花株系及受体材料 R15(对照)的发芽情况

Fig.3 Germination of transgenic cotton lines and receptor material R15 (control) under salt stress

表 2 盐胁迫下 3 个转基因棉花株系及受体材料 R15(对照)在萌发期的根长

Table 2 Root length of three transgenic cotton lines and receptor material R15 (control) at germination stage under salt stress

材料	根长(cm)		相对根长 (%)
	清水处理	200 mmol/L NaCl 处理	
D-1	4.4±0.41	1.9±0.22	43.18 **
D-2	3.9±0.36	1.7±0.18	43.58 **
D-3	4.1±0.38	1.7±0.23	41.46 **
R15	4.3±0.36	0.6±0.11	13.95

D-1、D-2、D-3 表示 3 个转基因棉花株系;根长为 3 次生物学重复的平均值±标准差;\*\*表示与受体材料 R15 相比,相对根长在 0.01 水平上差异显著( $P<0.01$ )。



R15 (350 mmol/L NaCl) R15 (清水)



D-1 (350 mmol/L NaCl) D-1 (清水)

D-1、D-2、D-3:转基因棉花株系。

图 4 盐胁迫下和清水中转基因棉花株系及受体材料 R15(对照)苗期生长情况

Fig.4 Growth of transgenic cotton lines and receptor material R15 (control) at seedling stage under salt stress and clear water treatment



表 3 盐胁迫下 3 个转基因棉花株系及受体材料 R15(对照) 苗期 30 d 的相对生长量

Table 3 Relative growth of transgenic cotton lines and receptor material R15 (control) at 30 days of seedling stage under salt stress

材料	相对株高	地上部 相对鲜质量	地上部 相对干质量
D-1	0.514±0.009 **	0.431±0.007 *	0.554±0.023 *
D-2	0.486±0.016 *	0.406±0.014 *	0.528±0.035 *
D-3	0.454±0.014 *	0.381±0.012 *	0.496±0.011 *
R15	0.379±0.015	0.305±0.015	0.406±0.014

D-1、D-2、D-3 表示 3 个转基因棉花株系; \* 表示与受体材料 R15 相比在 0.05 水平上差异显著 ( $P<0.05$ ); \*\* 表示与受体材料 R15 相比在 0.01 水平上差异显著 ( $P<0.01$ )。

### 3 讨论

近期的研究发现,DnaJ 蛋白作为一种广泛存在于植物细胞内的分子伴侣参与了多种植物抵抗非生物胁迫的过程。张大栋等<sup>[9]</sup>通过抑制消减杂交方法,从盐生植物海蓬子中克隆了 *DnaJ-like* 基因,Northern 杂交结果显示,在 200 mmol/L NaCl 胁迫下,该基因的表达量显著增多。赵志常等<sup>[10]</sup>通过 RT-PCR 技术从野生型拟南芥中克隆了 *DnaJ* 基因,并构建了含有目的基因的 pET32a 原核表达载体,在细菌中过量表达 *DnaJ* 基因后发现,其在含有 0.5 mol/L NaCl 的培养基中仍然可以正常生长,推测 *DnaJ* 基因的过表达提高了细菌的耐盐性。拟南芥中的 *BIL2* 基因是定位在线粒体上的 *DnaJ* 基因家族成员<sup>[11]</sup>,过表达 *BIL2* 基因能增强拟南芥植株对盐和强光胁迫的耐受性<sup>[12]</sup>。Fu 等<sup>[13]</sup>研究发现,*ER-sHSP* 基因能够提高番茄的耐盐能力,在盐胁迫下,转 *ER-sHSP* 番茄植株通过更粗壮的根来维持其体内相对较高的含水量,同时也能够吸收少量的  $\text{Na}^+$ ,积累更多的渗透物质和  $\text{Ca}^{2+}$ ,以减少盐胁迫对光系统的伤害。Sun 等<sup>[14]</sup>研究发现,*AsHSP17* 能够被高温、盐胁迫或脱落酸 (ABA) 处理所诱导。过表达 *AsHSP17* 基因会提高匍匐剪股颖 (*Agrostis stolonifera*) 对外源脱落酸和盐的超敏性,在这一过程中 *AsHSP17* 蛋白作为分子伴侣负调控光合作用和脱落酸依赖/独立的信号通路,提高了匍匐剪股颖对不良环境的抗性。

本研究从番茄中克隆了热激蛋白基因 *LeDnaJ*,并通过转基因棉花株系验证了其耐盐功能,发现

*LeDnaJ* 基因显著提高了陆地棉的耐盐性。目前,关于陆地棉中已克隆的热激蛋白基因的研究仍然较少。Kosmas 等<sup>[15]</sup>从陆地棉中克隆了 *HSPCB* 基因,RT-PCR 结果显示,该基因的表达受到干旱胁迫的诱导。Maqbool 等<sup>[16]</sup>从受干旱胁迫的亚洲棉中克隆了 *GHSP26* 基因,发现在干旱胁迫后的亚洲棉脱水叶片组织中 *GHSP26* 基因显著表达,过量表达 *GHSP26* 基因提高了陆地棉对干旱和热胁迫的耐受性<sup>[17-18]</sup>。此外,Wang 等<sup>[19]</sup>应用表达序列标签 (Expressed sequence tag, EST) 组装法和全基因组鉴定技术克隆了 40 个 *GhHsf* 基因,对植物不同发育阶段、不同组织中基因表达谱的分析结果表明,*GhHsf* 基因在棉花响应非生物胁迫耐受性和纤维发育等方面发挥重要作用。近年来,越来越多的非生物胁迫严重影响棉花的生长发育过程,导致其产量减少和纤维品质下降。其中盐害和干旱对于棉花产量潜力发挥的影响最严重。DnaJ 蛋白家族成员作为胁迫响应因子将在棉花抵御干旱和盐害胁迫中扮演重要的角色,进一步加强棉花 DnaJ 蛋白家族成员的研究将为棉花抗旱、抗盐碱的遗传改良提供更丰富的基因资源。

鉴于在响应逆境胁迫过程中的保护性角色,DnaJ 蛋白在多种作物中已经受到广泛的关注。通过分子遗传学手段已经证实了 DnaJ 蛋白在多种逆境胁迫下起调节作用,并且在多种植物中过表达 *DnaJ* 基因可以改良植物抵抗逆境胁迫的能力。植物在面临逆境胁迫时,能够激活并表达 DnaJ 蛋白,保护正常蛋白质不被降解以维持植物自身正常的生长发育。然而,DnaJ 蛋白如何抵抗逆境胁迫以发挥保护作用的具体机制还未被解析。因此,进一步加深 DnaJ 蛋白与其他蛋白质之间互作的研究将有助于解析其抵抗逆境胁迫的分子机制,从而为植物的抗逆育种提供依据。

### 参考文献:

- [1] GEORGOPOULOS C P, LAM B, LUNDQUIST-HEIL A, et al. Identification of the *E. coli dnaK* (groPC756) gene product [J]. Molecular and General Genetics, 1979, 172(2): 143-149.
- [2] KELLEY W L. The J-domain family and the recruitment of chaperone power [J]. Trends in Biochemical Sciences, 1998, 23(6): 222-227.
- [3] MIERNYK J A. The J-domain proteins of *Arabidopsis thaliana*: an unexpectedly large and diverse family of chaperones [J]. Cell

- Stress & Chaperones, 2001, 6(3): 209-218.
- [4] SO H A, CHUNG E, LEE J H. *Arabidopsis atDjC53* encoding a type III J-protein plays a negative role in heat shock tolerance[J]. Genes & Genomics, 2014, 36(6): 733-744.
- [5] ZHANG L, GAO Y K, PAN H T, et al. Cloning and characterization of a *Primula* heat shock protein gene, *PfHSP17.1*, which confers heat, salt and drought tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2013, 35(11): 3191-3200.
- [6] LI Z Y, LONG R C, ZHANG T J, et al. Molecular cloning and functional analysis of the drought tolerance gene *MsHSP70* from alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. Journal of Plant Research, 2017, 130(2): 387-396.
- [7] WU S J, WANG H H, LI F F, et al. Enhanced *Agrobacterium*-mediated transformation of embryogenic calli of upland cotton via efficient selection and timely subculture of somatic embryos[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2008, 26(3): 174-185.
- [8] SOTTOSANTO J B, GELLI A, BLUMWALD E. DNA array analyses of *Arabidopsis thaliana* lacking a vacuolar  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter; impact of AtNHX1 on gene expression[J]. The Plant Journal, 2004, 40(5): 752-771.
- [9] 张大栋,周春霖,任丽娟,等. 海蓬子 *DnaJ-like* 基因片段的表达和生物信息学分析[J]. 江苏农业学报, 2006, 22(3): 222-224.
- [10] 赵志常,张建军,张皖蓉,等. 拟南芥 DnaJ 蛋白的过量表达对细菌耐盐性的影响[J]. 广西师范大学学报(自然科学版), 2010, 28(1): 54-57.
- [11] RAJAN V B V, D'SILVA P. *Arabidopsis thaliana* J-class heat shock proteins: cellular stress sensors[J]. Functional & Integrative Genomics, 2009, 9(4): 433-446.
- [12] BEKH-OCHIR D, SHIMADA S, YAMAGAMI A, et al. A novel mitochondrial DnaJ/Hsp40 family protein BIL2 promotes plant growth and resistance against environmental stress in brassinosteroid signaling[J]. Planta, 2013, 237(6): 1509-1525.
- [13] FU C, LIU X X, YANG W W, et al. Enhanced salt tolerance in tomato plants constitutively expressing heat-shock protein in the endoplasmic reticulum[J]. Genetics and Molecular Research, 2016, 15(2): 15028301.
- [14] SUN X B, SUN C Y, LI Z G, et al. *AsHSP17*, a creeping bentgrass small heat shock protein modulates plant photosynthesis and ABA-dependent and independent signaling to attenuate plant response to abiotic stress[J]. Plant Cell and Environment, 2016, 39(6): 1320-1337.
- [15] KOSMAS S A, ARGYROKASTRITIS A, LOUKAS M, et al. Isolation and characterization of stress related heat shock protein calmodulin binding gene from cultivated cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. Euphytica, 2006, 147(3): 343-351.
- [16] MAQBOOL A, ZAHUR M, IRFAN M, et al. Identification, characterization and expression of drought related alpha-crystalline heat shock protein gene (*GHSP26*) from desi cotton[J]. Crop Science, 2007, 47(6): 2437-2444.
- [17] MAQBOOL A, ABBAS W, RAO A Q, et al. *Gossypium arboreum* *GHSP26* enhances drought tolerance in *Gossypium hirsutum*[J]. Biotechnology Progress, 2010, 26(1): 21-25.
- [18] ZAHUR M, MAQBOOL A, IFRAN M, et al. Functional analysis of cotton small heat shock protein promoter region in response to abiotic stresses in tobacco using agrobacterium-mediated transient assay[J]. Molecular Biology Reports, 2009, 36(7): 1915-1921.
- [19] WANG J, SUN N, DENG T, et al. Genome-wide cloning, identification, classification and functional analysis of cotton heat shock transcription factors in cotton (*Gossypium hirsutum*)[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 961.

(责任编辑:徐 艳)