

网络出版时间:2026-03-31

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20260330.1702.014

小麦耐低温相关 NAC 转录因子分析与表达

马艳^{1,2}, 王化俊^{2,3}, 杜佛力^{2,3}, 汪军成^{2,3}, 张宏^{2,3}, 司二静^{2,3},
杨轲^{2,3}, 孟亚雄^{2,3}, 马小乐^{2,3}, 姚立蓉^{2,3}, 李葆春^{1,2}

(1. 甘肃农业大学生命科学技术学院, 甘肃兰州 730070; 2. 甘肃省干旱生境作物学重点实验室/
甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 甘肃兰州 730070; 3. 甘肃农业大学农学院, 甘肃兰州 730070)

摘要:为探究小麦耐低温相关 NAC 转录因子的功能特性, 选用耐低温品种蚂蚱麦和低温敏感品种济麦 22 进行转录组测序, 筛选出 31 个可能与耐低温相关的 NAC 转录因子基因家族成员。生物信息学分析显示, 31 个 TaNAC 蛋白中 12 个为碱性蛋白($pI > 7$), 其余均为酸性蛋白($pI < 7$); 所有蛋白均呈亲水性, 主要定位于细胞核, 二级结构以无规则卷曲为主。共线性分析表明, 小麦与水稻的 NAC 转录因子基因之间具有较多的共线性关系。启动子分析发现, 这些 NAC 转录因子基因的启动子区含有多重参与逆境胁迫及激素响应的顺式作用元件, 其中 *TaNAC048-A1* 基因所含此类调控元件数量最为丰富。低温胁迫下, 蚂蚱麦中 *TaNAC048-D1*、*TaNAC048-A1*、*TaNAC015-B4*、*TaNAC039-D1*、*TaNAC104-D2*、*TaNAC048-B1*、*TaNAC001-B1* 和 *TaNAC001-A1* 均显著上调表达; 济麦 22 中, *TaNAC048-D1*、*TaNAC039-D1* 和 *TaNAC104-D2* 基因表达显著上调, *TaNAC048-B1* 基因表达显著下调, 其余 4 个基因的表达无显著变化。采用 qRT-PCR 验证转录组测序数据, 这些 TaNAC 转录因子基因可能在小麦低温胁迫响应中发挥重要作用。

关键词:小麦; 低温胁迫; NAC 转录因子; 表达分析

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2026)05-0595-09

Analysis and Expression of NAC Transcription Factors Related to Low Temperature Tolerance in Wheat

MA Yan^{1,2}, WANG Huajun^{2,3}, DU Foli^{2,3}, WANG Juncheng^{2,3}, ZHANG Hong^{2,3}, SI Erjing^{2,3},
YANG Ke^{2,3}, MENG Yaxiong^{2,3}, MA Xiaole^{2,3}, YAO Lirong^{2,3}, LI Baochun^{1,2}

(1. College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. Gansu Provincial Key Laboratory of Arid Habitat Crop Science/Gansu Provincial Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and Germplasm Innovation, Lanzhou, Gansu 730070, China; 3. College of Agriculture, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstracts: To investigate the functional characteristics of low-temperature tolerance-related NAC transcription factors in wheat, a low-temperature-tolerant variety Mazhamai and a low-temperature-sensitive variety Jimai 22 were used for transcriptome sequencing, and 31 candidate NAC transcription factors potentially associated with low-temperature tolerance were screened. Bioinformatics analysis showed that 12 of the TaNAC proteins are basic proteins($pI > 7$), while the others are acidic proteins($pI < 7$). All proteins are hydrophilic and mainly localized in the nucleus. The secondary structure was dominated by random coils. Collinearity analysis revealed that there were extensive collinear rela-

收稿日期: 2025-09-03 修回日期: 2026-01-24

基金项目: 甘肃省科技厅重点研发项目(25YFNA032); 甘肃省创新训练项目(S202510733020); 甘肃省科技计划联合计划基金项目(24JRRA840); 2025 大学生创新创业训练项目(2025); 现代寒旱特色农业种业攻关项目(ZYGG-2025-3, ZYGG-2025-12-3); 甘肃省重点人才项目(2023RCXM70); 中央引导地方科技发展资金项目(25ZYJA002); 甘肃省科技计划项目(24CXNA038); 甘肃省自然科学基金重点项目(24JRRA637); 甘肃省教育厅产业支撑计划项目(2021CYZC-12); 甘肃农业大学伏羲青年英才计划项目(Gaufx-03Y06, GAUfx-04Y011); 国重实验室开放基金项目(GSCS-2021-05)

第一作者 E-mail: 1354492422@qq.com(马艳)

通讯作者 E-mail: libc@gsau.edu.cn(李葆春); ylr0384@163.com(姚立蓉)

tionships between NAC transcription factors in wheat and rice. Promoter analysis indicated that the promoter regions of these NAC transcription factor genes contained various cis-acting elements involved in stress responses and hormone signaling, among which *TaNAC048-A1* harbored the most abundant regulatory elements. Under low-temperature stress, the expression levels of *TaNAC048-D1*, *TaNAC048-A1*, *TaNAC015-B4*, *TaNAC039-D1*, *TaNAC104-D2*, *TaNAC048-B1*, *TaNAC001-B1*, and *TaNAC001-A1* were significantly up-regulated in Mazhamai. In Jimai 22, *TaNAC048-D1*, *TaNAC039-D1*, and *TaNAC104-D2* were significantly up-regulated, while *TaNAC048-B1* was significantly down-regulated, and the remaining four genes showed no significant changes. The transcriptome sequencing data were verified by qRT-PCR. These TaNAC transcription factor genes may play important roles in the response of wheat to low-temperature stress.

Keywords: Wheat; Low-temperature stress; NAC transcription factor; Expression analysis

小麦 (*Triticum aestivum* L.) 作为全球主要的粮食作物, 其高产稳产对保障粮食安全具有重要影响^[1]。低温胁迫尤其冻害是限制小麦生长发育和产量的重要因素之一^[2]。低温胁迫可导致细胞膜损伤、代谢紊乱、活性氧积累等一系列生理生化变化, 严重时可引起植株死亡^[3]。因此, 提高小麦对低温胁迫的耐受性具有重要生产实践意义。

NAC 家族是植物特异性转录因子家族^[4]。在植株生长发育、器官形态建成、生命周期调控及衰老机制等关键生物学活动中发挥着核心作用, NAC 转录因子不仅参与内源性植物激素信号通路的调控, 也广泛响应生物胁迫 (如病原菌侵染) 与非生物胁迫 (如极端温度、干旱、盐碱等), 在植物适应复杂多变环境的过程中具有重要功能^[5-6]。詹鹏等^[7]发现干旱胁迫后, 4 个抗旱相关 NAC 基因在红花叶片中的表达均上调。胁迫响应型葡萄 NAC 转录因子可提高转基因拟南芥对脱落酸的敏感性, 并增强耐盐碱、耐冻及耐旱能力^[8]。Jiang 等^[9]通过转录组测序鉴定了 445 个与花生抗寒性显著相关基因, 主要归属于 NAC、BHLH 和 WRKY 等家族。Wang 等^[10]通过 RNA-seq 分析发现玉米干旱胁迫响应 NAC 基因 *ZmSNAC06*。Fu 等^[11]则通过转录组分析鉴定出 25 个碱蓬 NAC 基因 (*SgNACs*), 其中多数基因在盐胁迫 24 h 后表达显著上调。

为了解小麦 NAC 转录因子在低温胁迫响应中的抗寒机制, 本研究冷胁迫处理耐低温和低温敏感型小麦材料并进行转录组测序, 在转录组测序结果中筛选鉴定特异性响应小麦耐低温胁迫的 NAC 基因, 分析其生物信息学相关内容, 并结合 RT-PCR 结果探讨其在不同耐低温材料中的表达

模式差异, 以其为深入理解小麦 NAC 转录因子的功能提供理论基础, 并为小麦耐低温种质资源的挖掘提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料处理及转录组测序

试验材料为耐低温的蚂蚱麦和低温敏感型济麦 22。每个材料取 2 份等量种子样品, 置于 15% 次氯酸钠 (NaClO) 溶液 10 min 灭菌处理, 无菌蒸馏水对处理后的种子重复 3 次清洗, 清洗后的种子分置培养皿在人工气候箱培养。培养条件: 每日 16 h 光照/8 h 黑暗, 昼/夜温度 25 °C/22 °C, 湿度 60%。7 d 后选取生长状态一致的小麦幼苗移栽至钵中, 每隔两日以 Hoagland 营养液浇灌, 待幼苗生长至三叶一心期, 于人工气候箱内进行 -5 °C 低温胁迫 6 h 处理, 以 25 °C 0 h 为对照, 分别采集两组小麦幼苗叶片样品, 采用天根 RNA simple 试剂盒提取总 RNA, 合格 RNA 样品送交基迪奥生物科技有限公司进行转录组测序。

1.2 转录组数据中 NAC 转录因子基因筛选

基于低温胁迫条件下 $\log_2(\text{FPKM} + 1)$ 标准化处理后的数据, 选择具有显著差异表达的 31 个响应低温胁迫 TaNAC 转录因子基因家族成员, 进行后续分析。

1.3 小麦 NAC 蛋白理化性质及基因结构分析

利用 ExPASy (<https://www.expasy.org/>) 分析其氨基酸残基数、分子量、等电点、正电荷残基数 (Arg+Lys)、负电荷残基数 (Asp+Glu)、亲水指数 (GRAVY)、脂肪族指数等理化性质; 通过 WOLF PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>) 预测亚细胞定位, 并通过 SOPMA (https://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.html) 预测蛋

白质二级结构。采用 MEME 网站 (<https://meme-suite.org/meme/>, 最大基序数设定为 10) 分析保守基序。并通过 NCBI-CDD 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>) 验证所有 TaNAC 蛋白均含有完整的 NAM 保守结构域。利用 TBtools 软件对 TaNAC 蛋白的保守结构域及 TaNAC 编码基因的外显子-内含子结构进行分析与可视化展示。

1.4 小麦 NAC 转录因子基因染色体定位与共线性分析

通过 TBtools 获取并可视化 TaNAC 转录因子基因染色体位置信息。运用 MCScanX 工具分析小麦与拟南芥、水稻共线性关系, 结果经 TBtools 绘图展示。

1.5 小麦 NAC 转录因子基因的系统发育与启动子顺式作用元件分析

使用 MEGA11 软件中的 ML 法构建 *TaNAC* 和 *AtNAC* 基因系统发育树, 进行 1 000 次 boot-

strap 评估各节点的支持率, 并参考拟南芥 NAC 家族分类体系对 TaNAC 转录因子基因进行亚家族划分。利用在线工具 Itol (<https://itol.embl.de/>) 对进化树进行美化。提取各基因起始密码子上游 2000 bp 序列, 通过 PlantCARE 数据库预测顺式作用元件, 结果使用 TBtools 作图呈现。

1.6 小麦 NAC 转录因子基因时空表达谱绘制

自小麦综合性数据库 WheatOmics 1.0 中下载 *TaNAC* 转录因子基因在各组织的表达数据, 利用 TBtools 软件的 HeatMap 功能绘制表达热图。

1.7 小麦 NAC 转录因子基因表达分析

在初步筛选出的 31 个转录因子中选择差异表达最为显著的 8 个基因(表 1)进行 qRT-PCR 验证, 针对 *TaNAC* 基因设计 qRT-PCR 引物, 产物长度控制在 80~150 bp 之间。以 *TaActin* 作为参考基因, 3 次生物学重复, $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算基因相对表达量。使用 SPSS 软件进行方差分析, Graphpad prism 绘制图表。

表 1 荧光定量 PCR 引物
Table 1 Primers for fluorescent quantitative PCR

基因 Gene	上游引物 Forward primer(5'-3')	下游引物 Reverse primer(5'-3')
<i>TaNAC015-B4</i>	TCTTCCTCCTCCTCAGCTCC	CTCCTCCACCTCCAGATCCA
<i>TaNAC048-A1</i>	CCCCATCATCACCGAGATCG	TACCACTCCTTCTCGCCGTA
<i>TaNAC048-B1</i>	CCCCATCATCACCGAGATCG	TACCACTCCTTCTCGCCGTA
<i>TaNAC048-D1</i>	GAGGAGATTTCGCGTGAGGAG	GGTAGTGTGTACACAGCTCC
<i>TaNAC039-D1</i>	TCTTTCACACACGCTCTCC	AAAACCGACGCTCAGACAT
<i>TaNAC001-A1</i>	CATCACCGTCGCCGTCTTCG	TTGTGCTGCTGCTGACCTCTTC
<i>TaNAC001-B1</i>	GTGTGCCGGGTGTCTATGAA	TGCTGCTGACCTCTTCTTG
<i>TaNAC104-D2</i>	CCTCGACTACCTCCTCCACA	ACTTGTGAGGTCGACGTCC
<i>TaActin</i>	ACCGTGGTGATGTTGTGC	TGGTGGCTGGTAGTTGATA

2 结果与分析

2.1 低温胁迫转录组数据中 NAC 转录因子基因筛选鉴定

从转录组数据库共鉴定出 31 个响应低温胁迫的 NAC 转录因子基因, 参考已有 *TaNAC* 基因系统命名^[12-14]方法对这 31 个 NAC 基因进行系统命名。分析显示, 处理组与对照组之间蚂蚱麦存在 13 个差异表达基因; 济麦 22 有 11 个差异表达基因; 两品种对照组之间共鉴定出 18 个差异表达基因。其中 TraesCS2B02G118500、TraesCS3A02G406000、Traes

CS5A02G291200、TraesCS5B02G290200 在蚂蚱麦上调表达, 济麦 22 表达不显著; TraesCS4D02G176000、TraesCS3D02G401200、TraesCS7D02G302000 两个品种均上调表达; TraesCS3B02G439600 在蚂蚱麦中上调表达, 在济麦 22 中则下调表达。以上 8 个 NAC 转录因子基因因其在品种间表达模式的差异或一致的低温响应特征, 作为重点候选基因进行后续研究。

2.2 小麦耐低温相关 NAC 蛋白理化性质及基因结构分析

蛋白质理化性质分析显示, 31 个 TaNAC 转

录因子成员的氨基酸数目为 222~389,分子量介于 24.37~43.08 kD,等电点(pI)为 5.34~9.73,其中 12 个 pI>7.00,为碱性蛋白,其余为酸性蛋白。脂肪族指数介于 54.55~72.40,提示其在溶解性和抗氧化性上存在差异。所有 TaNAC 转录因子成员的 Gravy 均为负值,表明其具有亲水特性。正负电荷数相近,说明蛋白质整体呈电中性。亚细胞定位预测结果显示,全部 TaNAC 转录因子均定位在细胞核,说明小麦在受到低温胁迫时,NAC 转录因子在核内迅速启动或关闭一系列相关基因的表达,帮助适应低温胁迫。二级结构分析显示,无规则卷曲为主要结构(63.74%~83.95%),而 α -螺旋(6.32%~22.51%)、延长链(7.36%~16.67%)和 β -转角(1.67%~3.98%)占比较低,提示该家族蛋白可能具有相似的功能特征。

进一步对小麦耐低温相关 NAC 转录因子进行结构分析。结果显示,共有 10 个保守基序(Motif 1~Motif 10)(图 1A)。部分 TaNAC 蛋白虽含有相同的保守基序,但其排列与分布存在差异,反映了该家族在进化过程中发生的序列结构分化,这可能为其功能多样化提供了基础。结构域(Domain)分析证实,所有 31 个 TaNAC 蛋白均含有完整的 NAM 结构域(图 1B)。基因结构分析显示(图 1C),TaNAC 基因的外显子数为 2~4 个,内含子数为 1~5 个;除 TaNAC062-B1

基因的 3'端缺少 UTR 外,其余 30 个基因均含有 UTR 区域。

2.3 小麦耐低温相关 NAC 转录因子基因的染色体分布与共线性分析

分析显示(图 2),TaNAC 转录因子基因在小麦第二、三、四、五同源群各染色体上均存在,第二同源群基因数目最多(9 个),第一同源群仅分布于 1A、1D 染色体(2 个),第七同源群仅分布于 7B、7D 染色体(2 个),第六同源群未检测到 TaNAC 同源序列,表明亚基因组之间存在不对称进化。此外,2A 染色体上 TaNAC015-A4、TaNAC058-A1-1 和 TaNAC058-A1-2I 基因密集分布于染色体一端,推断其为串联重复基因簇。

全基因组共线性分析显示(图 3),共有 31 个基因参与了 57 次片段重复事件,说明片段重复在扩大小麦 NAC 转录因子基因中发挥重要作用。进一步通过与拟南芥、水稻的种间共线性分析发现(图 4),TaNAC 与 AtNAC 基因间未显示明显的共线性,但与水稻 OsNAC 基因则存在较强的共线性。其中,3D 染色体上的共线性基因对数量最多,4B、2A 与 1A 染色体上仅各发现 1 对。与双子叶植物拟南芥相比,单子叶植物水稻和小麦共线性更强,暗示二者 NAC 基因家族在功能上具有较高相似性,可借助已知 OsNAC 基因功能,对小麦同源 NAC 基因功能进行合理推断。

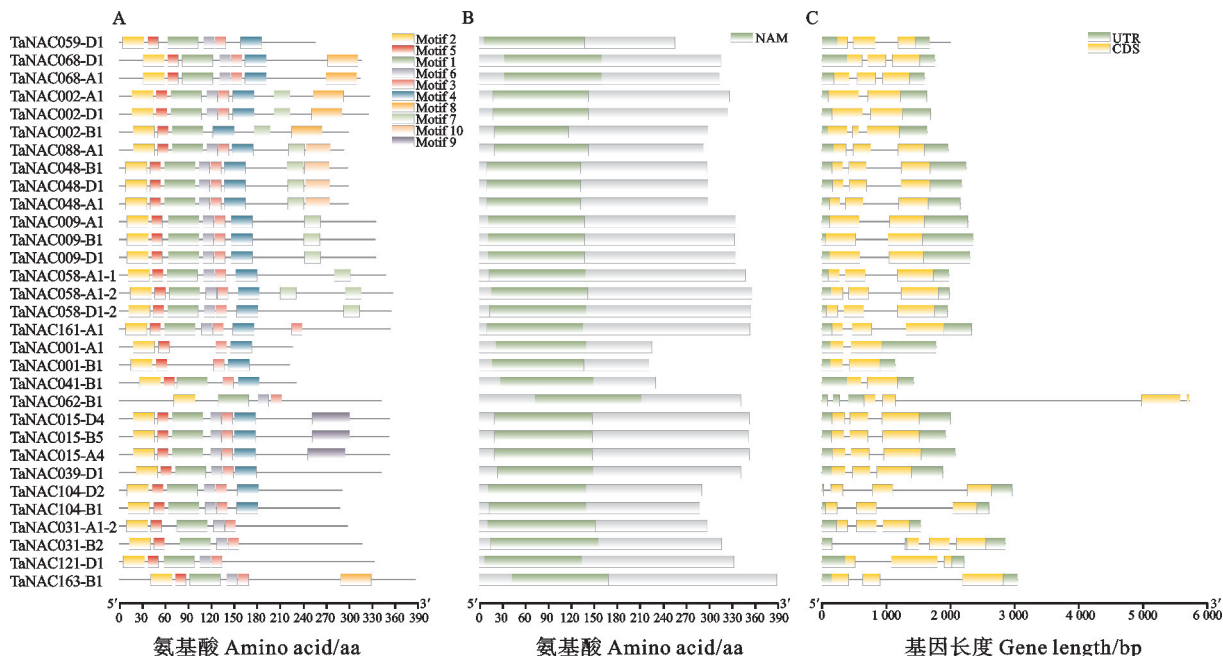


图 1 小麦 NAC 保守蛋白基序结构(A)、保守结构域(B)和基因结构(C)

Fig. 1 Conserved protein motif structure(A), conserved domains(B) and gene structure(C) of wheat NAC transcription factors

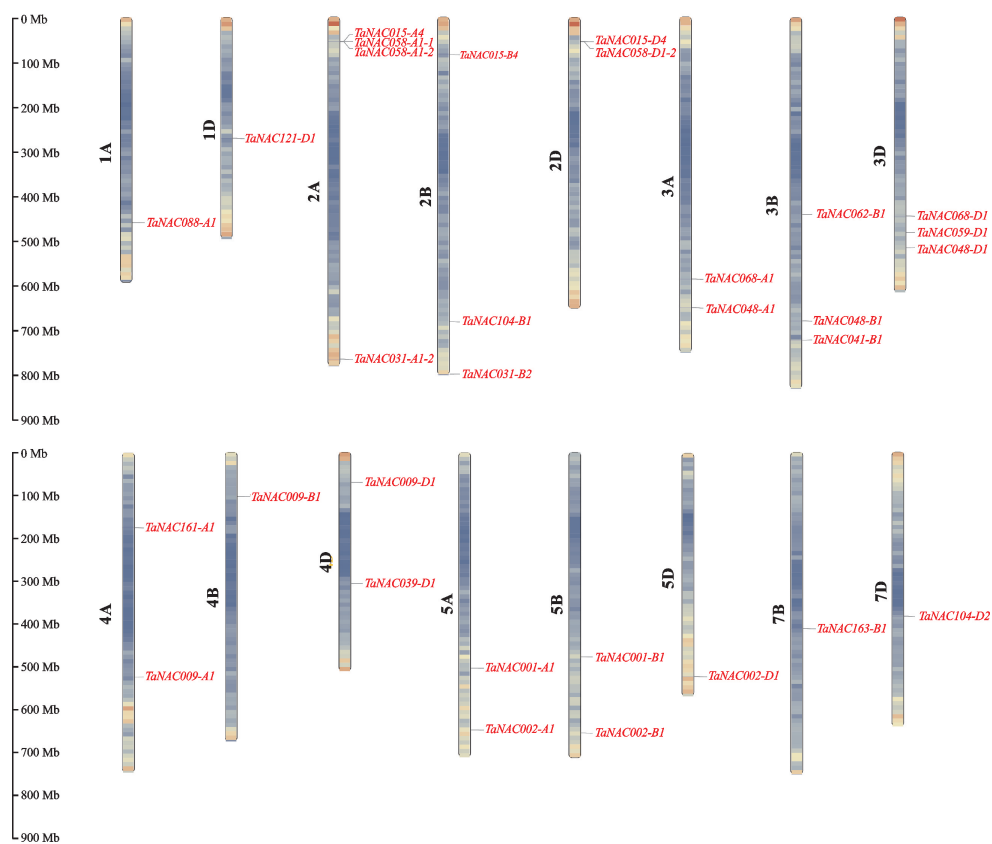
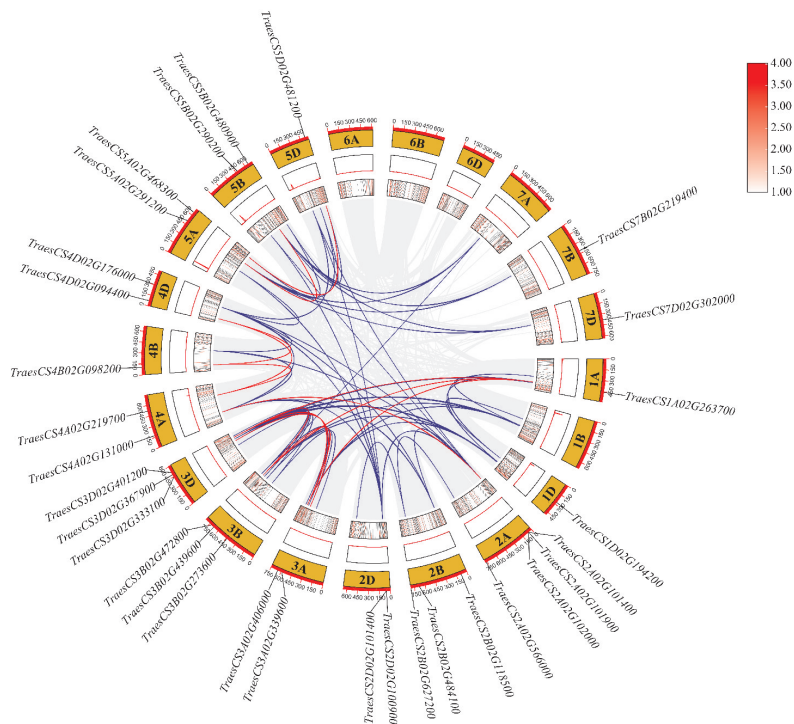


图 2 小麦 NAC 转录因子基因的染色体定位
Fig. 2 Chromosomal localization of wheat NAC transcription factor genes



红色线代表 31 个 NAC 转录因子基因间的共线性关系;蓝色线代表 31 个 NAC 转录因子基因与小麦参考基因组间的共线性关系;标尺代表染色体上的基因密度。
The red line represents the collinearity relationship between 31 NAC transcription factor genes. The blue line represents the collinearity relationship between 31 NAC transcription factor genes and the wheat reference genome; Scale: Gene density on chromosomes.

图 3 小麦低温胁迫 NAC 转录因子基因种内共线性分析

Fig. 3 Intra-specific covariance analysis of the NAC transcription factor genes in wheat under low temperature stress

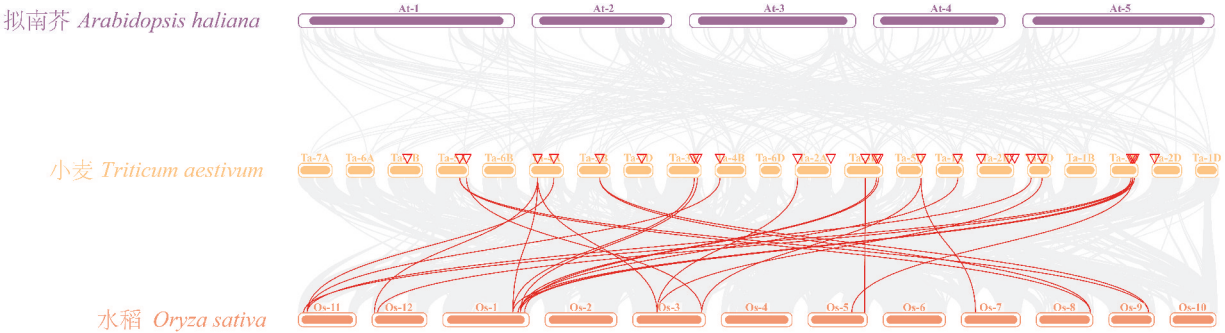


图 4 小麦低温胁迫与水稻及拟南芥 NAC 转录因子基因的共线性分析

Fig. 4 Covariance analysis of wheat low-temperature stress with rice and Arabidopsis thaliana NAC transcription factor genes

2.4 小麦耐低温相关 NAC 转录因子基因的系统发育进化树与启动子顺式作用元件分析

根据 *AtNAC* 基因家族分类标准, 31 个 *TaNAC* 基因可划分为 11 个亚族(图 5): ATAF 和 ATNAC3 亚族成员数量最多(分别为 7 个和 5 个), 表明这两个亚族在进化过程中经历了明显的基因扩张。TERN、ANAC011 等亚族仅含单个成员, 表明这些古老的亚族在进化上相对保守, 可能承担着基础的生长发育调控功能。

进一步提取 *TaNAC* 基因起始密码子上游 2 000 bp 的启动子序列, 利用 PlantCARE 数据库进行顺式元件预测, 共预测了 748 个顺式作用元件, 分属 16 种类型。统计分析结果表明, 除 TA-TA box 和 CAAT box 等核心启动子元件外, 低

温响应元件 LTR 与抗氧化胁迫响应元件 ARE 占比最高; 此外还包括 GC-motif、MBS、TC-rich repeats 等与非生物胁迫响应相关的元件。激素响应元件方面, 鉴定到茉莉酸响应元件(CGTCA-motif)、生长素响应元件(TGA-element)和脱落酸响应元件(ABRE)等。

2.5 小麦耐低温相关 NAC 转录因子基因时空表达谱

基于小麦多组学数据库 WheatOmics 1.0, 分析了 31 个 *TaNAC* 基因在根、叶、茎、穗和种子中的组织表达模式(图 6), 结果表明, *TaNAC161-A1*、*TaNAC001-B1*、*TaNAC163-B1*、*TaNAC015-A4*、*TaNAC015-D4* 和 *TaNAC104-B1* 在根中表达较高, *TaNAC001-A1* 和 *TaNAC062-B1* 在茎中表达

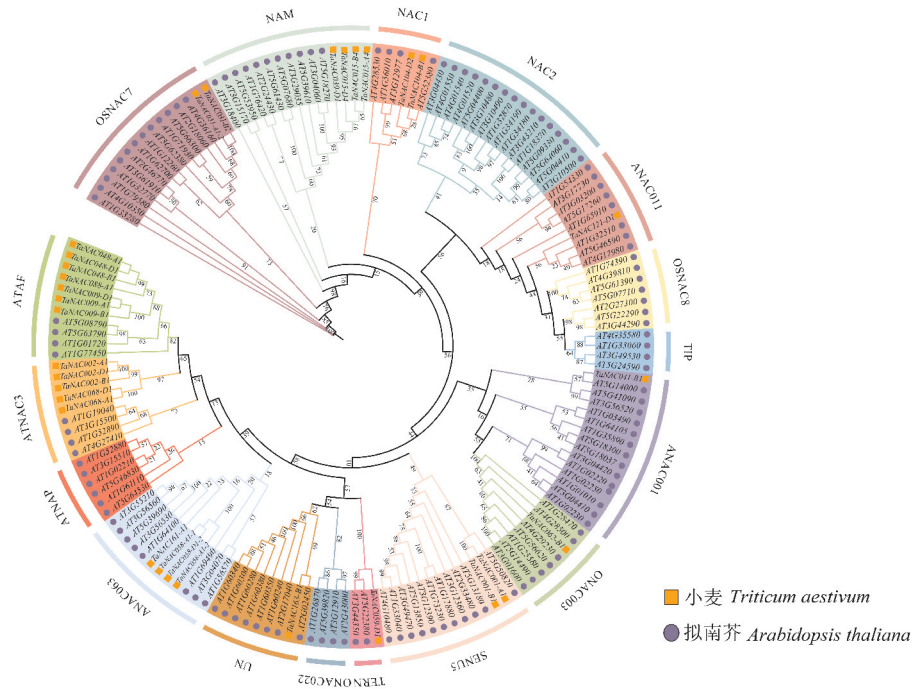
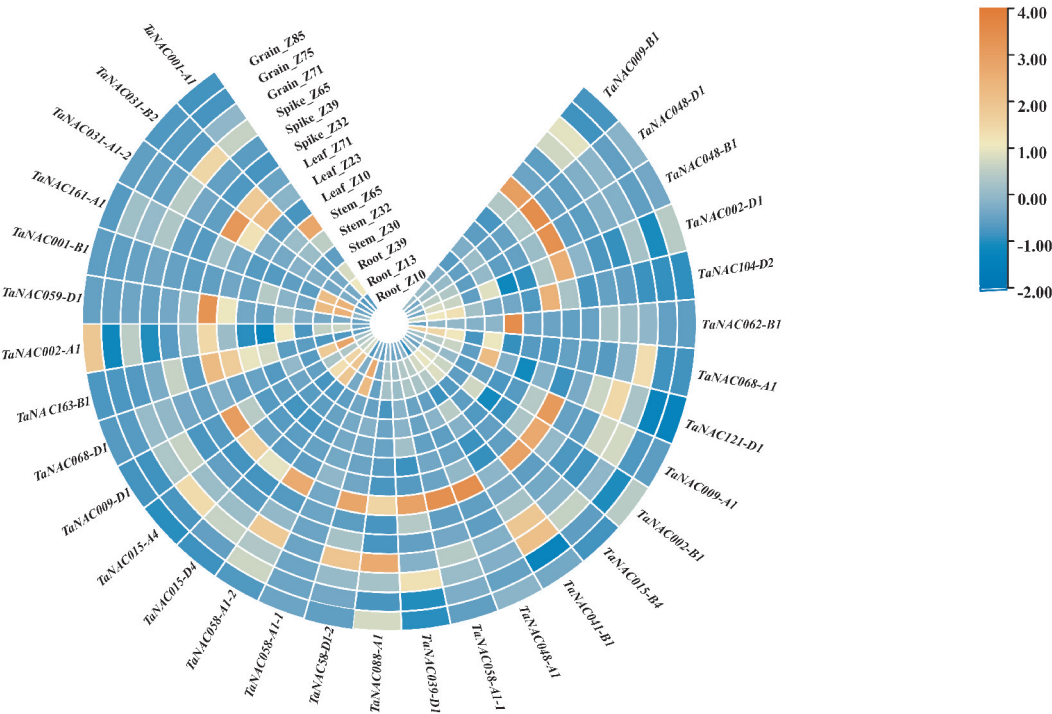


图 5 小麦低温胁迫与拟南芥 NAC 转录因子基因系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree of NAC transcription factor genes in wheat and Arabidopsis thaliana

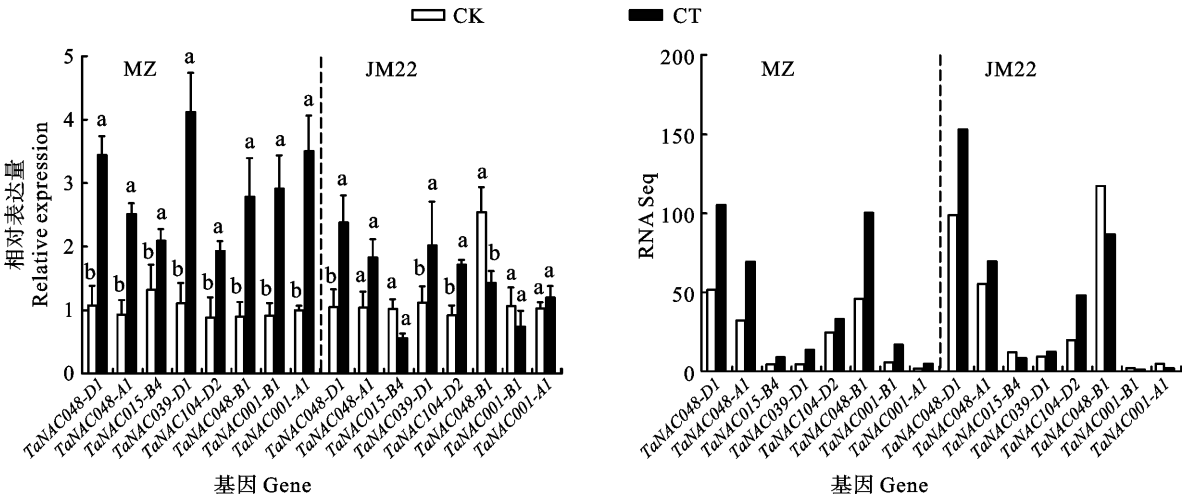


TaNAC 基因在不同组织中的表达模式。Grain_Z85:开花后 20 d 的种子;Grain_Z75:开花后 14 d 的种子;Grain_Z71:开花后 2 d 的种子;Spike_Z65:开花期的穗;Spike_Z39:可见旗叶期的穗;Spike_Z32:节间穗;Leaf_Z71:开花后 2 d 的叶片;Leaf_Z23:三叶期的叶片;Leaf_Z10:幼苗期的叶片;Stem_Z65:开花期的茎;Stem_Z32:茎间质;Stem_Z30:抽穗期的茎;Root_Z39:可见旗叶期的根;Root_Z13:三叶期的根;Root_Z10:幼苗期的根。橙色表示正调控表达高,蓝色表示负调控表达高。

TaNAC gene expression patterns in different tissues. Grain_Z85: seeds sampled at 20 days after flowering; Grain_Z75: seeds sampled at 14d after anthesis; Grain_Z71: seeds sampled at 2d after anthesis; Spike_Z65: flowering spike; Spike_Z39: spike at visible flag leaf stage; Spike_Z32: internode spike; Leaf_Z71: leaves sampled at 2d after flowering; Leaf_Z23: leaves in the three—tillering period; Leaf_Z10: leaves sampled at seedling stage; Stem_Z65: stem sampled at anthesis; Stem_Z32: stem interstitial; Stem_Z30: stem sampled at heading stage; Root_Z39: root sampled at flag leaf visible period; Root_Z13: root sampled at 3—leaf stage; Root_Z10: root sampled at seedling stage. Red indicates high positive regulation expression, and orange indicates high negative regulation expression.

图 6 小麦 NAC 转录因子基因(*TaNAC*)的时空表达

Fig. 6 Spatio-temporal expression of wheat NAC transcription factor genes(*TaNAC*)



CK:对照;CT:低温;MZ:蚂蚱麦;JM22:济麦 22。
CK: Control; CT: Cold; MZ: Mazhamai; JM22: Jimai 22.

图 7 小麦品种蚂蚱麦和济麦 22 叶片中 8 个基因在低温胁迫下的表达模式

Fig. 7 Expression patterns of the eight genes in Mazhamai and Jimai 22 leaves under low temperature stress

较高,多数TaNAC在叶中表达较高,TaNAC031-B2、TaNAC058-A1-2、TaNAC058-D1-2、TaNAC088-A1、TaNAC041-B1和TaNAC068-A1在穗中表达较高,TaNAC002-A1、TaNAC088-A1、TaNAC002-B1和TaNAC002-D1在籽粒中表达较高。以上结果提示,TaNAC基因可能参与小麦的生长发育及胁迫响应过程。

2.6 低温胁迫后不同小麦材料中NAC转录因子基因的表达

qRT-PCR结果表明,低温胁迫下的蚂蚱麦和济麦22中,TaNAC基因表现出差异表达模式(图7)。在耐低温材料蚂蚱麦中,TaNAC048-D1、TaNAC048-A1、TaNAC015-B4、TaNAC039-D1、TaNAC104-D2、TaNAC048-B1、TaNAC001-B1、TaNAC001-A1均呈显著上调表达。在低温敏感材料济麦22中,这些基因的表达响应呈现分化:TaNAC048-D1、TaNAC039-D1和TaNAC104-D2为上调表达,TaNAC048-B1为下调表达,其余4个基因TaNAC048-A1、TaNAC015-B4、TaNAC001-B1和TaNAC001-A1的表达变化不显著。基于RNA-Seq数据,TaNAC015-B4和TaNAC001-A1在低温胁迫下济麦22中表现出下调的表达趋势,但其变化与qRT-PCR结果存在差异。

3 讨论

NAC转录因子家族已在拟南芥和水稻等多种模式植物中得到系统鉴定,其家族规模因物种而异,如水稻中含151个成员^[15],拟南芥中含117个成员^[16],这可能与不同物种的生长发育及环境适应特性有关。该家族已被证实广泛参与叶片衰老、次生细胞壁合成、根系发育、种子形成等过程,其中约25% NAC基因参与一种或多种逆境响应^[17]。近年来,NAC在低温应答中的作用日益受到关注,Wang等^[18]发现番茄SINAC3转录因子通过CBF非依赖性途径调节抗寒性;Ou等^[19]系统综述了茄科作物中NAC转录因子在低温、抗旱、耐盐和病原体感染中关键作用;Lu等^[20]报道鹅掌楸NAC72、NAC73a、NAC16在低温胁迫下持续上调;Hu等^[21]证实超量表达旱稻SNAC2能显著提高低温胁迫下植株的存活率。这些研究表明NAC转录因子在植物低温胁迫应答中扮演重要角色。

本研究基于转录组数据筛选出31个在低温胁迫下差异表达的TaNAC转录因子家族成员。理化性质分析显示,其中12个NAC为酸性蛋白,19个为碱性蛋白,且均含有NAM超家族保

守结构域,该结构域可能参与DNA结合及转录活性调控^[22-23]。二级结构以无规则卷曲为主,其次为 α -螺旋与延伸链,与Yuan等^[24]的预测结果一致。亚细胞定位预测表明它们均定位于细胞核,与方志红等^[25]在白羊草中的报道相符。NAC蛋白的N端为包含A~E 5个亚结构域的保守区,参与核定位及DNA识别;C端为高度可变的转录激活区,可发挥激活或抑制功能^[26]。

系统发育分析可推测基因功能^[27]。本研究中,TaNAC002-A1、TaNAC002-D1、TaNAC002-B1、TaNAC068-D1和TaNAC068-A1与Singh等^[28]拟南芥ANAC019(AT1G52890)、ANAC055(AT3G15500)和ANAC072(AT4G27410)高度同源,后者可结合DRE元件并受低温诱导表达。基因家族扩张常由串联重复和片段重复驱动^[29]。本研究的共线性分析发现57个重复事件均为片段重复,表明片段重复是TaNAC家族扩增的主要方式,与赵艳青等^[30]在黄瓜中的发现类似。

启动子顺式作用元件分析共鉴定出16类元件,包括光、胁迫、激素和代谢响应元件。各基因启动子区以激素和胁迫响应元件为主,如TaNAC031-B2、TaNAC048-D1、TaNAC002-B1、TaNAC002-D1基因均含有2个低温响应元件LTR,类似于Li等^[31]鉴定出含有MBS(MYB结合位点)和LTR(低温响应元件)的10个胁迫响应性CeSNAC基因,其中CeSNAC3和CeSNAC9在低温、干旱和高盐胁迫下显著上调表达,表明其通过多通路协同响应非生物胁迫。这些结果共同说明NAC家族可通过多通路协同响应逆境胁迫。已有研究也表明NAC可通过激活抗氧化酶基因(如SOD、CAT)或调控渗透调节相关通路来增强植物耐冷性^[32],王会文等^[33]报道BraNAC012与BraNAC027可促进渗透调节物质(如脯氨酸、可溶性糖)的积累,并提升CAT、SOD、POD等抗氧化酶活性,从而提升植株的耐寒性。

参考文献:

- [1]黄金鑫,刘百川,展晓孟,等.全生育期增温对两个济麦系列小麦品种品质的影响[J].西北农业学报,2025,34(4):606.
HUANG J X, LIU B C, ZHAN X M, et al. Effects of warming during whole growth period on quality properties of two Jimai series wheat varieties [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2025, 34(4): 606.
- [2]彭帅,王美,卢浩宇,等.黄腐酸对植物非生物胁迫的缓解作用研究进展[J].湖南农业科学,2025(3):67.
PENG S, WANG M, LU H Y, et al. Research progress in the alleviating effect of fulvic acid on abiotic stress in plants [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2025(3): 67.
- [3]SHEWRY P R, HEY S J. Do we need to worry about eating wheat [J]. *Nutrition Bulletin*, 2016, 41(1): 6.

- [4] KIKUCHI K, UEGUCHI-TANAKA M, YOSHIDA K T, *et al.* Molecular analysis of the NAC gene family in rice [J]. *Molecular and General Genetics*, 2000, 262(6): 1047.
- [5] MATHEW I E, AGARWAL P. May the fittest protein evolve: Favoring the plant-specific origin and expansion of NAC transcription factors [J]. *BioEssays*, 2018, 40(8): 1800018.
- [6] YUAN X, WANG H, CAI J T, *et al.* NAC transcription factors in plant immunity [J]. *Phytopathology Research*, 2019, 1(1): 3.
- [7] 詹鹏, 钟祖昌, 向妮艳, 等. 红花 NAC 基因家族鉴定及干旱胁迫响应分析[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(20): 5520.
- ZHAN P, ZHONG Z C, XIANG N Y, *et al.* Identification of *Carthamus tinctorius* NAC gene family and analysis of drought stress response [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2022, 47(20): 5520.
- [8] JU Y L, YUE X F, MIN Z, *et al.* VvNAC17, a novel stress-responsive grapevine (*Vitis vinifera* L.) NAC transcription factor, increases sensitivity to abscisic acid and enhances salinity, freezing, and drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 146: 98.
- [9] JIANG C J, ZHANG H, REN J Y, *et al.* Comparative transcriptome-based mining and expression profiling of transcription factors related to cold tolerance in peanut [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(6): 1921.
- [10] WANG F, CHEN Y, YANG R S, *et al.* Identification of Zm-SNAC06, a maize NAC family transcription factor with multiple transcripts conferring drought tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plants*, 2025, 14(1): 12.
- [11] FU X J, ZHU L M, YU X M, *et al.* Identification of NAC transcription factors in *Suaeda glauca* and their responses to salt stress [J]. *Current Issues in Molecular Biology*, 2024, 46(8): 8741.
- [12] GUÉRIN C, ROCHE J, ALLARD V, *et al.* Genome-wide analysis, expansion and expression of the NAC family under drought and heat stresses in bread wheat (*T. aestivum* L.) [J]. *PLoS One*, 2019, 14(3): e0213390.
- [13] LÜ S K, GUO H, ZHANG M, *et al.* Large-scale cloning and comparative analysis of TaNAC genes in response to stripe rust and powdery mildew in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Genes*, 2020, 11(9): 1073.
- [14] VRANIC M, PEROCHON A, BENBOW H, *et al.* Comprehensive analysis of pathogen-responsive wheat NAC transcription factors: New candidates for crop improvement [J]. *G3*, 2022, 12(11): jkac247.
- [15] NURUZZAMAN M, MANIMEKALAI R, SHARONI A M, *et al.* Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice [J]. *Gene*, 2010, 465(1-2): 30.
- [16] OOKA H, SATOH K, DOI K, *et al.* Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana* [J]. *DNA Research*, 2003, 10(6): 239.
- [17] LI X L, YANG X, HU Y X, *et al.* A novel NAC transcription factor from *Suaeda liaotungensis* K. enhanced transgenic *Arabidopsis* drought, salt, and cold stress tolerance [J]. *Plant Cell Reports*, 2014, 33(5): 767.
- [18] WANG T, MA X M, CHEN Y, *et al.* SINAC3 suppresses cold tolerance in tomatoes by enhancing ethylene biosynthesis [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2024, 47(8): 3132.
- [19] OU X G, SUN L, CHEN Y, *et al.* Characteristics of NAC transcription factors in Solanaceae crops and their roles in responding to abiotic and biotic stresses [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2024, 709: 149840.
- [20] LU Y, HU L F, YU L, *et al.* Physiological and transcriptomic analysis revealed that the accumulation of reactive oxygen species caused the low temperature sensitivity of *Liriodendron × sinoamericanum* [J]. *Plant Science*, 2024, 342: 112020.
- [21] HU H H, YOU J, FANG Y J, *et al.* Characterization of transcription factor gene SNAC2 conferring cold and salt tolerance in rice [J]. *Plant Molecular Biology*, 2008, 67(1): 169.
- [22] 陈倩, 游双梅, 邢乐华, 等. 果树 NAC 转录因子的研究进展 [J]. 分子植物育种, 2021, 19(19): 6396.
- CHEN Q, YOU S M, XING L H, *et al.* Research progress of NAC transcription factors in fruit trees [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(19): 6396.
- [23] XU W J, DUBOS C, LEPINIEC L. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB-BHLH-WDR complexes [J]. *Trends in Plant Science*, 2015, 20(3): 176.
- [24] YUAN J, LIU Y, WANG Z, *et al.* Genome-wide analysis of the NAC family associated with two paleohexaploidization events in the tomato [J]. *Life (Basel)*, 2022, 12(8): 1236.
- [25] 方志红, 刘建宁, 张燕, 等. 白羊草 NAC 转录因子家族生物信息学分析 [J]. 草地学报, 2020, 28(5): 1266.
- FANG Z H, LIU J N, ZHANG Y, *et al.* Bioinformatics analysis of NAC gene family in *Bothriochloa ischaemum* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(5): 1266.
- [26] 于婧瑶, 巩琛锐. 植物 NAC 转录因子的生物学功能研究进展 [J]. 河南科学, 2024, 42(11): 1589.
- YU J Y, GONG C R. Advances in biological functions of plant NAC transcription factors [J]. *Henan Science*, 2024, 42(11): 1589.
- [27] 刘杏忠, 戴玉成. 菌物学研究的几点思考 [J]. 菌物研究, 2023, 21(S1): 10.
- LIU X Z, DAI Y C. Comprehensive understanding of some topics in mycological researches [J]. *Journal of Fungal Research*, 2023, 21(S1): 10.
- [28] SINGH S, KOYAMA H, BHATI K K, *et al.* The biotechnological importance of the plant-specific NAC transcription factor family in crop improvement [J]. *Journal of Plant Research*, 2021, 134(3): 475.
- [29] WANG Y Z, LÜ J H, CHEN D, *et al.* Genome-wide identification, evolution, and expression analysis of the KT/HAK/KUP family in pear [J]. *Genome*, 2018, 61(10): 755.
- [30] 赵艳青, 杜建厂, 王盼乔, 等. 哈氏黄瓜 NAC 转录因子的鉴定及低温表达分析 [J]. 园艺学报, 2019, 46(7): 1303.
- ZHAO Y Q, DU J C, WANG P Q, *et al.* Identification and expression analysis of NAC transcription factor gene family under low temperature in *Cucumis sativus* var. *hardwickii* [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2019, 46(7): 1303.
- [31] LI X M, LI N, WEN D D, *et al.* Identification of stress responsive NAC genes in *Casuarina equisetifolia* L. and its expression analysis under abiotic stresses [J]. *Agronomy*, 2024, 14(3): 535.
- [32] LI W H, LI H W, WEI Y F, *et al.* Overexpression of a *Fraria vesca* NAM, ATAF and CUC(NAC) transcription factor gene (*FvNAC29*) increases salt and cold tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(7): 4088.
- [33] 王会文, 范军强, 路晓明, 等. 白菜型冬油菜 NAC 基因家族鉴定及表达分析 [J]. 江苏农业学报, 2022, 38(5): 1315.
- WANG H W, FAN J Q, LU X M, *et al.* Identification and expression analysis of NAC gene family in *Brassica rapa* L. [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 38(5): 1315.