网络出版时间:2025-09-10 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.03.001

# 苹果 *NF-X*1 基因家族及盐胁迫下的组织表达模式分析

白雪琪[1],周佳[2],史天乐[2],李涛[1],张军科[2],李兴亮[2]
(1 山西农业大学 林学院,山西 太谷 030801;2 北京市农林科学院 林业果树研究所,北京 100093)

[摘 要] 【目的】以苹果转录因子 *NF-X*1 基因家族为研究对象,对其不同组织表达特性及对盐胁迫的响应规律进行研究,为进一步探索苹果砧木抗盐功能提供参考。【方法】以苹果砧木八棱海棠(*Malus* × *robusta*)为供试材料,利用生物信息学方法,对 *NF-X*1 基因家族成员进行鉴定、基本理化性质分析、亚细胞定位预测及系统进化分析;使用 TBtools,对 *MdNF-X*1 基因家族成员的基因结构、保守结构域、保守基序、启动子顺式元件等进行可视化分析;采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)技术,检测 *MdNF-X*1 基因家族的组织表达特异性及盐胁迫下不同组织中的响应特性。【结果】苹果 *MdNF-X*1 基因家族有 *MdNF-X*1-1、*MdNF-X*1-2、*MdNF-X*1-3、*MdNF-X*1-4 共 4 个成员,编码蛋白分别含 1 162,1 138,865 和 830 个氨基酸,亚细胞定位预测均为细胞核内蛋白。基于氨基酸序列的系统进化分析显示,4 个 MdNF-X1 成员可分为 2 个亚组,且均与葡萄 NF-X1 家族亲缘关系最近。蛋白功能域分析结果显示,MdNF-X1 家族成员均含有 NF-X1-zinc-finger 保守结构域,属于锌指转录因子;顺式作用元件分析表明,*MdNF-X*1 基因家族启动子中含有盐、干旱胁迫及脱落酸、生长素等响应元件。RT-qPCR 检测显示,*MdNF-X*1-1 和 *MdNF-X*1-3 在根中表达量较高,*MdNF-X*1-2 在根和叶中表达较高且表达量相近,*MdNF-X*1-4 在各个组织中表达量均较低;在盐胁迫处理下,4 个 *MdNF-X*1 基因在根、茎、叶中对盐胁迫均有响应,其中以 *MdNF-X*1-1 基因在根系中对盐胁迫的响应最为显著,相对表达量高于 *MdNF-X*1 基因家族的其他成员。【结论】苹果砧木八棱海棠中的 *MdNF-X*1-1 基因在盐胁迫下显著诱导表达,表明其可能参与八棱海棠对盐胁迫的应答调控,为进一步揭示其在抗盐胁迫中的具体功能提供了依据。

[关键词] 苹果砧木;八棱海棠;*NF-X*1 基因家族;盐胁迫;转录因子
[中图分类号] S661.1 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)03-0001-09

# Analysis of the *NF-X*1 gene family in apple and its tissue expression pattern under salt stress

BAI Xueqi[1], ZHOU Jia[2], SHI Tianle[2], LI Tao[1], ZHANG Junke[2], LI Xingliang[2]
(1 *College of Forestry, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi* 030801, *China*;
2 *Institute of Forestry and Pomology, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing* 100093, *China*)

**Abstract**:【Objective】The apple transcription factor *NF-X*1 gene family was used as the research object to study its expression characteristics in different tissues and the response pattern to salt stress, providing a reference for further research on the salt resistance function of apple rootstocks.【Method】Using the apple rootstock, *Malus* × *robusta*, as the test material, bioinformatics methods were used to identify members of the *NF-X*1 gene family, analyze the basic physicochemical properties, predict the subcellular localization, and perform the phylogeny analysis. The gene structures, conserved domains, conserved mo-

[收稿日期] 2024-11-29 [修回日期] 2025-01-21
[基金项目] 国家自然科学基金项目(32372640);新疆苹果产业技术体系项目(XJLGCYJSTX04-2024-15)
[作者简介] 白雪琪(1999—),女,河北唐山人,在读硕士,主要从事果树栽培育种研究。E-mail:18333836826@163.com
[通信作者] 李涛(1985—),男,河南许昌人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事林木抗性分子生理研究。E-mail:litao@sxau.edu.cn

tifs, and promoter cis-elements of the *MdNF-X1* gene family members were visualized using TBtools. Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the tissue-specific expression patterns of the *MdNF-X1* gene family and its response properties in different tissues under salt stress. 【Result】 The apple *MdNF-X1* gene family comprises four members, *MdNF-X1-1*, *MdNF-X1-2*, *MdNF-X1-3*, and *MdNF-X1-4*, encoding proteins with 1 162, 1 138, 865 and 830 amino acids, respectively, all predicted to be nuclear in subcellular localization. Phylogenetic analysis based on amino acid sequences revealed that the four MdNF-X1 members could be classified into two subgroups, all being most closely related to the grape NF-X1 family. Protein functional domain analysis showed that all MdNF-X1 family members contained the NF-X1-zinc-finger conserved domain, identifying them as zinc-finger transcription factors. Cis-acting element analysis demonstrated that the promoters of *MdNF-X1* gene family contained response elements to salt stress, drought stress and response elements including abscisic acid and auxin. RT-qPCR analysis showed that *MdNF-X1-1* and *MdNF-X1-3* had higher expression in roots; *NF-X1-2* had higher and similar expression in roots and leaves; *MdNF-X1-4* had lower expression in all tissues. Under salt stress, all four *MdNF-X1* genes responded in roots, stems, and leaves. Among them, *MdNF- X1-1* exhibited the most significant response to salt stress in the roots, with its relative expression exceeding other family members. 【Conclusion】 The expression of *MdNF-X1-1* gene in the apple rootstock *Malus* × *robusta* was significantly induced under salt stress, suggesting its involvement in the response regulation of *Malus* × *robusta* under salt stress. This provides a basis for further revealing its specific functions in salt stress resistance.

**Key words**: apple rootstock; *Malus* × *robusta*; *NF-X1* gene family; salt stress; transcription factor

植物的生长和发育受到多种非生物因素的影响，如高盐、干旱、极端温度等，其中盐胁迫是对植株生长发育影响最严重的非生物胁迫之一[1-2]。在盐胁迫下，植株根系水分与矿质元素吸收、叶片光合效率、生长势及抗病性等都会受到严重影响[3-4]。苹果(*Malus*)为蔷薇科苹果属多年生落叶乔木，是重要的农业经济作物之一，在全球范围广泛种植且栽植历史悠久。我国盐渍化土壤达 $3.69\times10^7$ $hm^2$，是世界盐碱地大国之一[5-6]。在苹果生产中，土壤盐渍化严重制约着我国苹果的产量与品质及其产业的可持续发展[7]。

高盐胁迫会引发植株复杂的应激反应，许多生理与形态指标都会随之发生改变，使苹果植株在生长过程中受到毒害[8]。盐胁迫导致植株光合速率降低，影响碳水化合物的合成，进而使干物质积累下降[9]。当植株细胞内的 $Na^+$ 含量过高时，会引起细胞失水皱缩，导致叶尖枯黄及叶片萎蔫、脱落，甚至导致整株死亡[10-11]。当 $Cl^-$ 的浓度超出正常水平时，其将抑制植物对 $HPO_4^{2-}$ 的吸收，从而导致植物生长受阻[12]。此外，盐胁迫还会引起苹果缺铁性黄叶病的发生，严重影响树体的正常生长[13]。挖掘抗盐基因、培育强抗盐性砧木以提高苹果植株抗盐性，是缓解我国苹果产业盐害问题的有效途径之一[14]。

在盐渍、干旱、低温等逆境胁迫下，植物体组织或细胞会感知并传导胁迫信号至相关转录因子，从而启动抗逆基因表达，使植物在胁迫条件下产生逆境响应[15]。1994 年，人们首次发现 NF-X1 类转录因子，启动子 X-Box(X-Box motif)为其结合元件[16]。有研究发现，动植物和微生物中均含有 NF-X1 类转录因子，在植物生长发育、非生物胁迫抗性形成等方面发挥功能[17]。人类 NF-X1 转录因子由 NF-X1 型锌指蛋白组成，形成可以介导与 DNA 结合的富含胱氨酸区域[18]。拟南芥 NF-X1 家族含有 2 个蛋白成员，分别为 AtNF-XL1 和 AtNF-XL2，盐胁迫条件下 AtNF-XL1 在植株生长方面发挥重要作用，同时参与光合速率调控[19]。小麦 NF-X1 类转录因子在种子寿命和种皮渗透等方面发挥着作用[16]，其中 *TaNF-X1-3* 基因参与调控小麦叶锈病的抗性形成[20]。

NF-X1 转录因子在植物生长、发育以及响应逆境胁迫过程中起着至关重要的作用，但目前研究大多集中于人类疾病方面，关于苹果砧木 NF-X1 转录因子的研究报道较少。为揭示其在苹果砧木盐胁迫响应中的作用机制，本研究以苹果砧木八棱海棠(*Malus* × *robusta*)为供试材料，系统分析 NF-X1 家族的进化关系、基因结构、顺式作用元件等，并进一步通过 RT-qPCR 技术分析 *MdNF-X1* 基因家族的盐胁迫响应特性，旨在保证苹果正常生长发育，提高

苹果产量，并为培育强抗盐性的苹果砧木提供参考。

## 1　材料与方法

### 1.1　植物材料与胁迫处理

试验在北京市农林科学院林业果树研究所栽培组实验室进行，供试材料为 1 年生八棱海棠（*Malus*×*robusta*）盆栽苗，配制 200 mmol/L NaCl 溶液，对八棱海棠盆栽苗进行 NaCl 溶液浇灌（浇透）后，将盆栽苗浸泡于 NaCl 溶液中，持续进行盐胁迫，采集盐胁迫处理 0，4，8，16 和 24 h 的根、茎、叶样本进行分析。取样时，随机选取 5 株混合取样，设 3 个生物学重复，样本用液氮速冻后置于－80 ℃冰箱保存备用。花样本采自八棱海棠盛花期，果实样本采于花后 40 d。

### 1.2　苹果 NF-X1 家族成员鉴定及理化性质分析

在研究苹果 NF-X1 家族蛋白过程中，通过苹果基因组数据库（https://iris.angers.inra.fr/gddh13/）对 *NF-X1* 基因家族碱基序列进行检索，以获得该家族成员的氨基酸序列信息。使用在线平台 Ex-pasyprotparam（https://web.expasy.org/protparam/）对 NF-X1 家族成员蛋白的基本理化性质进行分析，用 WoLF PSORT（https://wolfpsort.hgc.jp/）对 NF-X1 家族成员蛋白进行亚细胞定位预测，用 SOPMA（https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html）对 NF-X1 家族成员蛋白的二级结构进行分析。

### 1.3　苹果 *NF-X1* 基因家族系统进化分析

利用 MEGA11.0 软件，对苹果及其他 5 个物种，即拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）、毛果杨（*Populus trichocarpa*）、大豆（*Glycine max*）、玉米（*Zea mays*）和葡萄（*Vitis vinifera*）共 24 个 NF-X1 家族成员的氨基酸序列进行遗传进化关系分析，其中拟南芥 *NF-X1* 基因序列下载自 TAIR（http://arabidopsis.org），毛果杨、大豆 *NF-X1* 基因序列来自 Phytozome（https://phytozome-next.jgi.doe.gov/），玉米和葡萄 *NF-X1* 基因序列来自 Ensembl Plant（http://plants.ensembl.org/index.html）。采用邻近结合法（neighbor-joiningmethod）构建 NF-X1 家族成员系统进化树，校验参数 Bootstrap 设定为 1 000。

### 1.4　苹果 *NF-X1* 家族成员基因结构分析

从苹果基因数据库（https://iris.angers.inra.fr/gddh13/）获得全基因组注释文件（general feature format，GFF），用于基因结构图的绘制，将目的基因与 GFF 文件中的基因名相对应，通过 TBtools 软件对基因结构进行可视化分析。

### 1.5　苹果 NF-X1 家族成员蛋白保守结构域及保守基序分析

从 NCBI 网站获取 hitdata 文件，使用 MEME（http://meme-suite.org/tools/meme）对 NF-X1 蛋白保守基序进行分析，将基序搜索次数设为 12，利用 TBtools 对保守结构域和保守基序进行可视化分析。

### 1.6　苹果 *NF-X1* 家族成员基因启动子顺式作用元件分析

从苹果基因组数据库中获取苹果 *NF-X1* 基因翻译起始位点（ATG）上游 1 500 bp 的启动子序列，使用在线平台 Plant CARE（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/）对顺式作用元件进行分析，并利用 TBtools 软件对整理后的结果进行可视化处理。

### 1.7　苹果 *NF-X1* 家族基因组织表达及盐胁迫下不同组织部位的相对表达量分析

使用 RNAprep Pure 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒（TianGen，China）提取总 RNA，具体操作步骤参照说明书进行。通过用 TUREscript RT MasterMix 逆转录试剂盒（Tsingke Biotechnology，China）进行反转录，反转录过程严格按照试剂盒操作说明进行，使合成的 cDNA 具有良好的质量和稳定性，以确保后续实时荧光定量 PCR 检测的准确性。利用 Primer Premier 5 软件设计并合成荧光定量 PCR 引物（表 1）（北京市中美泰和生物技术有限公司，China）。

**表 1　实时荧光定量 PCR 试验引物序列**

Table 1　Sequences of real-time quantitative PCR primer for experiments

| 基因<br>Gene | 基因 ID<br>Gene ID | 正向引物序列（5′→3′）<br>Forward primer sequence（5′→3′） | 反向引物序列（5′→3′）<br>Reverse primer sequence（5′→3′） |
|---|---|---|---|
| *MdNF-X1-1* | MD06G1232100 | CCTCCCTGTGATACATCTTGTTTG | GGTGCTGGCAACCTTTGAACAATG |
| *MdNF-X1-2* | MD14G1238900 | AGAAGAATTGTGGAAGACATC | CCCTGAGAGAGCATTATTTG |
| *MdNF-X1-3* | MD00G1166700 | CTGCAAAAAATTATTTCCAACGTG | GATTCGGGGGTATCTTCTTTGTCG |
| *MdNF-X1-4* | MD07G1222000 | CAAACCTCGACACTGCAAGTATG | CACGTTGGAAATAATTTTCTGTTTG |
| *Mdactin* | XM008356922 | CTGAACCCAAAGGCTAATCG | ACTGGCGTAGAGGGAAAGAA |

采用实时荧光定量 PCR 试剂盒 SYBR Green SuperReal PreMix（TIANGEN，China），使用 CFX384 荧光定量 PCR 仪（Bio-Rad，USA）对样本进行实时荧光定量 PCR 检测，并进行 3 次技术重

复,PCR 反应体系为:PowerUp™ SYBR™ Green qPCR MasterMix 5 μL,上游和下游引物各 0.5 μL,cDNA 0.8 μL,dd$H_2O$ 3.2 μL。PCR 反应程序:95 ℃预变性 30 s,95 ℃变性 10 s,56 ℃退火 30 s,39 个循环,用仪器默认熔解曲线采集程序。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算基因相对表达量,利用 SPSS 软件进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 苹果 *NF-X1* 基因家族的鉴定

通过多物种多序列蛋白功能结构域的对比,从苹果基因中共筛选到 4 个 *NF-X1* 基因家族成员,分别为 *MdNF-X1*-1、*MdNF-X1*-2、*MdNF-X1*-3 和 *MdNF-X1*-4。理化特性分析结果(表 2)显示,苹果 *NF-X1* 家族基因基因组 DNA 长度为 4 342～4 914 bp,转录本长度为 2 495～4 215 bp,编码 830～1 162 个氨基酸,蛋白分子质量为 92 522.20～126 420.08 u,理论等电点(pI)为 8.84～8.47,总平均亲水性指数为－0.474～－0.608,表明 MdNF-X1 均为亲水性蛋白。二级结构预测结果显示,MdNF-X1 蛋白具有 α-螺旋、延伸链及无规则卷曲 3 种构型。进一步分析表明,3 种构型中无规则卷曲占比最高(75.14%～77.71%),其次为 α-螺旋(13.98%～18.03%),因此无规则卷曲和 α-螺旋是 MdNF-X1 蛋白的主要二级结构元件。亚细胞定位结果表明,除 MdNF-X1-3 在细胞核、细胞膜、细胞质等部位均有存在的可能外,其余蛋白均被定位在细胞核上。

**表 2 苹果 *NF-X1* 基因家族成员的理化性质**

Table 2 Physicochemical properties of *NF-X1* gene family members in *Malus domestica*

| 基因 Gene | Pfam 别称 Pfam aliases | 基因组 DNA 长度/bp Genomic DNA length | 转录本长度/bp Transcript length | 氨基酸数 Number of amino acids | 分子质量/u Molecular weight | 理论等电点 Theoretical pI | 总平均亲水性指数 Grand average of hydropathicity (GRAVY) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *MdNF-X1*-1 | PF01422 | 4 531 | 4 215 | 1 162 | 126 420.08 | 8.48 | －0.474 |
| *MdNF-X1*-2 | PF01422 | 4 543 | 4 210 | 1 138 | 123 368.39 | 8.47 | －0.487 |
| *MdNF-X1*-3 | PF01422 | 4 914 | 2 936 | 865 | 96 814.38 | 8.84 | －0.562 |
| *MdNF-X1*-4 | PF01422 | 4 342 | 2 495 | 830 | 92 522.20 | 8.84 | －0.608 |

### 2.2 苹果 *NF-X1* 基因家族成员系统进化树的构建

根据苹果、拟南芥、毛果杨、大豆、玉米、葡萄 NF-X1 家族的氨基酸序列构建系统进化树,结果见图 1。图 1 显示,6 个物种 NF-X1 家族的 24 条氨基酸序列分为Ⅰ、Ⅱ 2 个亚族,其中 MdNF-X1-1、MdNF-X1-2 与毛果杨 PtrNF-X1-3、PtrNF-X1-4 及葡萄 VvNF-X1-2 的同源关系较高,与 VvNF-X1-2 最为相近;而 MdNF-X1-3、MdNF-X1-4 与葡萄 VvNF-X1-1 的同源关系最高。

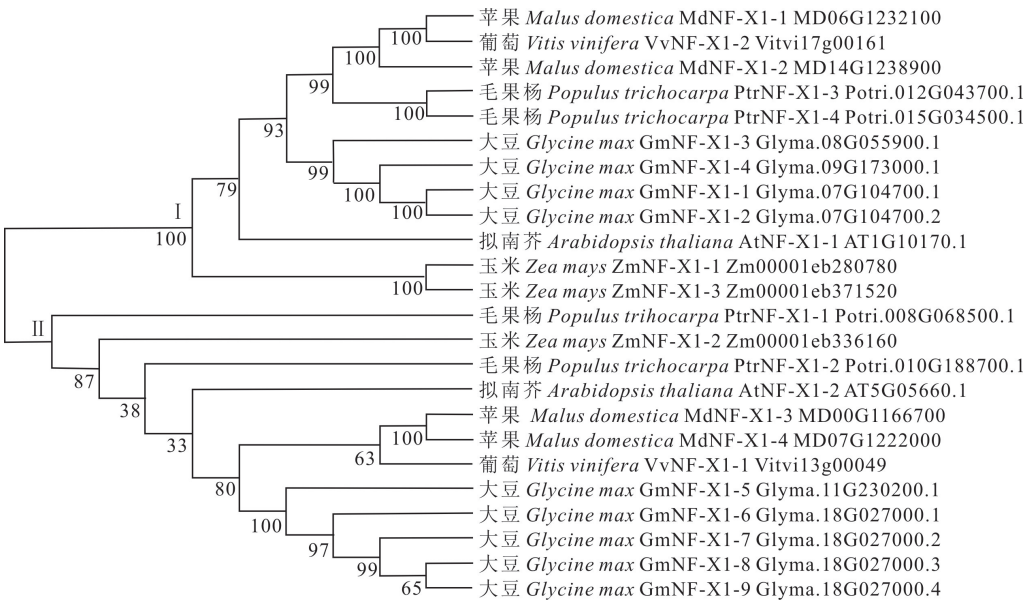



图 1 基于苹果、拟南芥、毛果杨、大豆、玉米、葡萄 NF-X1 氨基酸序列的系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of NF-X1 amino acid sequences from *Malus domestica*, *Arabidopsis thaliana*, *Populus trichocarpa*, *Glycine max*, *Zea mays*, and *Vitis vinifera*

### 2.3　苹果 *NF-X1* 基因结构分析

基因结构分析结果（图 2）显示，*MdNF-X1-1* 与 *MdNF-X1-2* 基因结构相似，外显子和内含子均为 1 个，且均有 3 个非翻译区（UTR）；*MdNF-X1-3* 外显子和内含子均为 14 个，有 3 个 UTR；*MdNF-X1-4* 外显子为 13 个，内含子为 12 个，不含非翻译区。

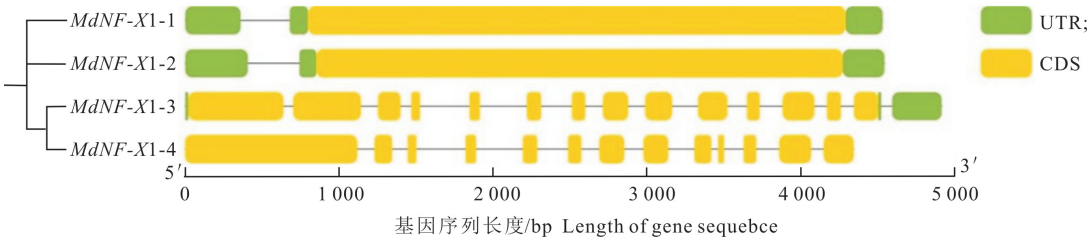



图 2　苹果 *NF-X1* 基因的结构

Fig. 2　Gene structure of *NF-X1* family in *Malus domestica*

### 2.4　苹果 *NF-X1* 基因保守基序及保守结构域分析

蛋白保守基序分析结果（图 3）显示，MdNF-X1-1 与 MdNF-X1-2 蛋白基序非常相似，二者均含有 motif 1～12。MdNF-X1-3 与 MdNF-X1-4 蛋白基序较相似，其中 MdNF-X1-3 含有 16 个蛋白基序，包含 motif 1～12；MdNF-X1-4 含有 15 个蛋白基序，包含除 motif 4 以外的 motif。蛋白保守结构域分析结果（图 3）显示，MdNF-X1-1 与 MdNF-X1-2 保守结构域高度相似，均含有 RING-CH-C4HC3-NFX1-like、R3H superfamily、NF-X1-zine-finger、NF-X1-zine-finger superfamily 4 种保守结构域。MdNF-X1-3 与 MdNF-X1-4 保守结构域也高度相似，均含有 RING-CH-C4HC3-NFXL1、NF-X1-zine-finger 2 种保守域。MdNF-X1-1～MdNF-X1-4 均含有 NF-X1-zine-finger 结构域，且均为锌指型转录因子。

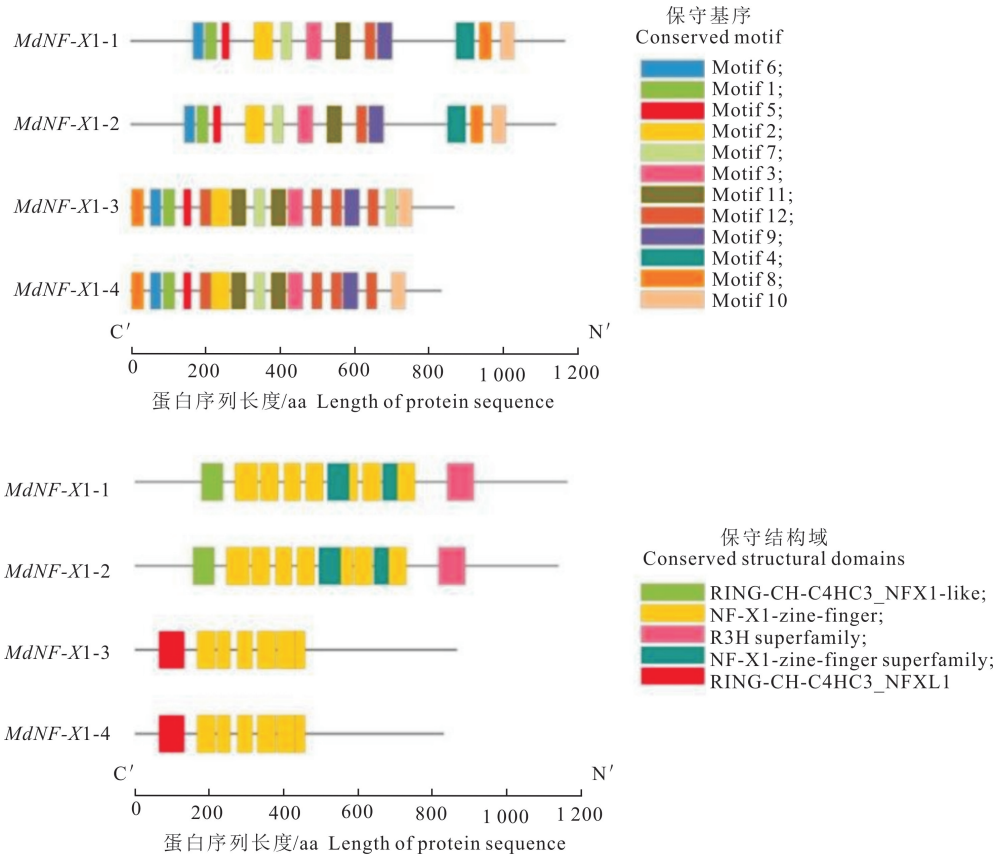



图 3　苹果 *NF-X1* 基因保守基序及保守结构域分析

Fig. 3　Analysis of conserved motifs and conserved structural domains of *NF-X1* gene in *Malus domestica*

### 2.5 苹果 *NF-X1* 基因启动子顺式作用元件分析

对 *MdNF-X1* 基因家族成员进行启动子顺式作用元件分析,结果(图 4)显示,*MdNF-X1* 基因启动子上存在大量抗逆相关的元件,如与响应环境胁迫相关的顺式元件和参与激素响应的顺式作用元件。与环境抗逆相关的元件中,MYB 和 MBS 可响应干旱诱导,MYC 则有助于植物抵御盐碱化土壤的侵害,LTR 与植物应对寒冷气候相关,ARE 参与厌氧诱导响应,TC-rich repeats 有助于防御胁迫响应,W box 可能在自然衰老中起主导作用。参与激素响应的元件包括与茉莉酸甲酯相关的 CGTCA-motif 和 TGACG-motif,与水杨酸相关的 TCA-element,与赤霉素相关的 TATC-box、P-box 和 GARE-motif,与生长素相关的 TGA-element 以及与脱落酸相关的 ABRE。同时,*MdNF-X1* 基因启动子上均含有转录起始元件 TATA-box。上述结果表明,苹果 *NF-X1* 基因家族可能参与激素和环境胁迫的响应。

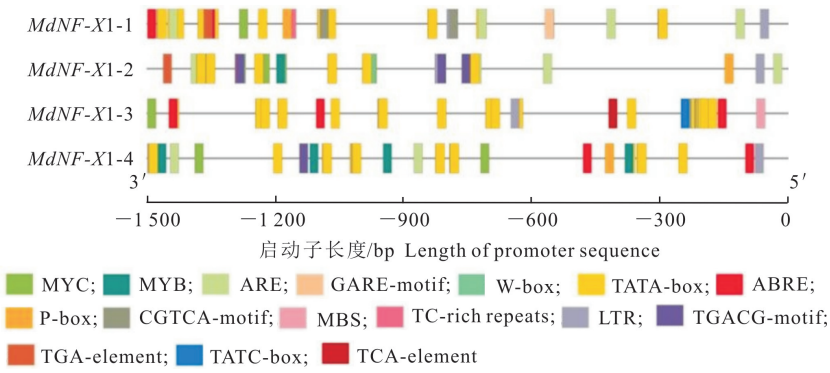



图 4 *MdNF-X1* 基因启动子上游的顺式作用元件

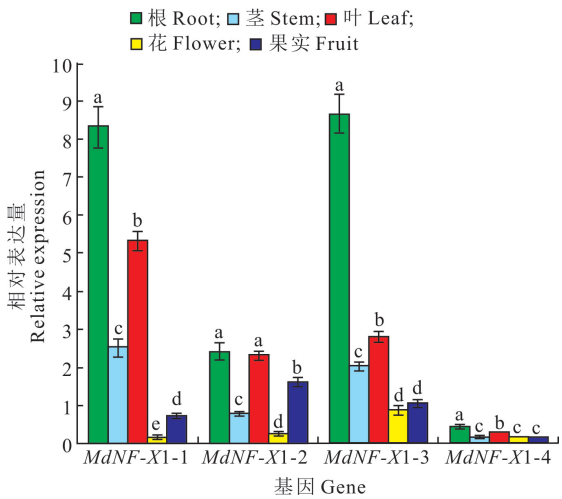
Fig. 4 Cis-acting elements in the promoter regions of *MdNF-X1* genes

### 2.6 苹果 *NF-X1* 家族基因组织特异性表达分析

使用北京市农林科学院林业果树研究所栽培组实验室提供的八棱海棠苗木的根、茎、叶及早期采集的花和果实,通过 RT-qPCR 检测苹果 *NF-X1* 基因在八棱海棠不同组织中的表达情况,结果见图 5。图 5 显示,*NF-X1* 家族基因在八棱海棠不同组织中的表达量并不相同。*MdNF-X1-1* 和 *MdNF-X1-3* 在根中表达量最高,其次是叶片;*MdNF-X1-2* 在根、叶和果实中表达量均较高;*MdNF-X1-4* 同样是在根中表达量最高,在其他部位只有微弱表达;*NF-X1* 家族的 4 个基因均以花部的表达量最低。不同组织相比各个基因表达量也不尽相同,八棱海棠根以 *MdNF-X1-3* 的表达量最高,其次是 *MdNF-X1-1*,二者表达量相近;*MdNF-X1-1* 是茎和叶中表达量最高的基因;*MdNF-X1-2* 和 *MdNF-X1-3* 分别是花和果中表达量最高的基因;与其他 *NF-X1* 家族基因相比,*MdNF-X1-4* 是根、茎、叶、花和果实中表达量最低的基因。

### 2.7 苹果 *NF-X1* 家族基因表达对盐胁迫的响应

将北京市农林科学院林业果树研究所栽培组实验室提供的八棱海棠苗木经 200 mmol/L 盐处理后,分别于盐处理后 0,4,8,16 和 24 h 采集根、茎、叶进行 RT-qPCR 检测,分析盐处理不同时间点 *MdNF-X1* 基因在八棱海棠根、茎、叶中的相对表达量,结果如图 6 所示。




图柱上标不同小写字母表示同一基因在不同组织中相对表达量差异显著($P<0.05$)。下同。

Different lowercase letters above the bars indicate significant differences in relative expression among tissues for a given gene ($P<0.05$). The same below.

图 5 *MdNF-X1* 基因在不同组织中表达特异性的 RT-qPCR 检测

Fig. 5 RT-qPCR analysis of tissue-specific expression profiles of *MdNF-X1* genes

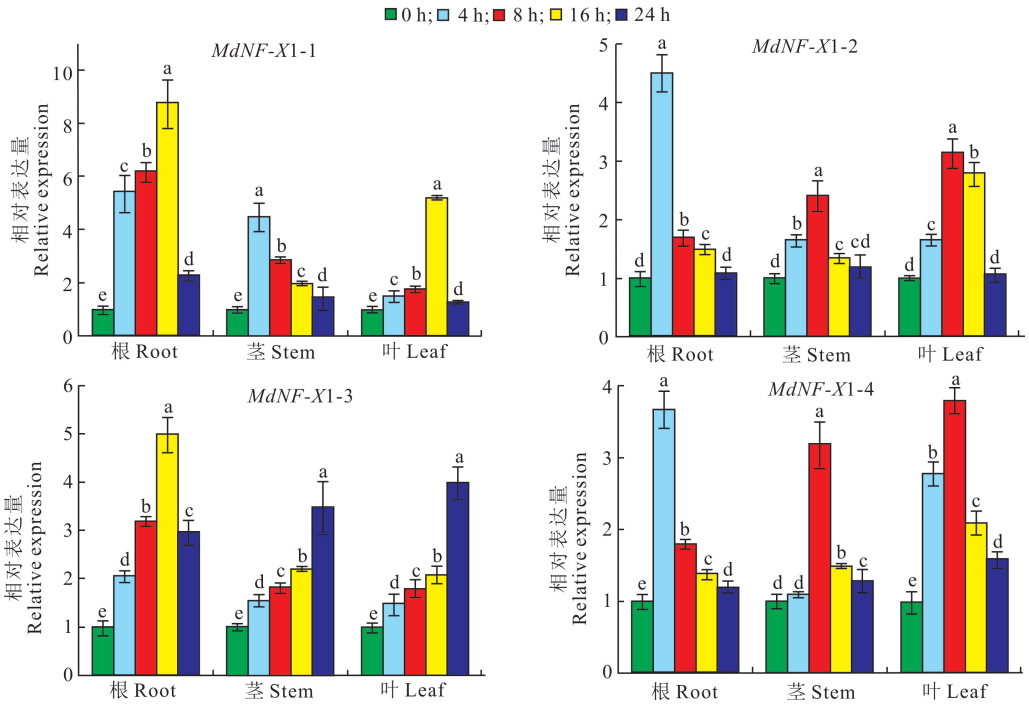



图 6　200 mmol/L 盐处理下 *MdNF-X1* 基因组织表达特征的 RT-qPCR 检测

Fig. 6　RT-qPCR analysis of tissue-specific expression profiles of *MdNF-X1* genes under 200 mmol/L salt stress

图 6 结果显示，在盐处理 16 h 后，八棱海棠根和叶中的 *MdNF-X1-1* 相对表达量达到最高，茎在处理 4 h 达到最高；*MdNF-X1-2* 在根部盐处理 4 h 后相对表达量达到最高，茎和叶在盐处理 8 h 后表达量达到最高；*MdNF-X1-3* 的表达量在盐处理 16 h 的根部达到最高，茎和叶则在处理 24 h 达到最高；*MdNF-X1-4* 在根部处理 4 h 后达到最高，茎和叶则在处理 8 h 达到最高。在根、茎和叶中，均以 *MdNF-X1-1* 对盐胁迫的响应最为强烈。

## 3　讨　论

非生物胁迫对植物的生长发育具有深远影响，其中土壤盐渍化是限制植物生长的主要非生物胁迫之一。盐渍化土地含有钠盐、硫酸盐、碳酸盐等多种盐类，植物吸收过多盐类会引起植物生理功能障碍，进而导致营养匮乏及受到离子毒害[21]。盐胁迫下，植物根系是第一个感知和应对胁迫信号的器官[22]，植物根系的生长发育直接影响植株的养分吸收以及植株整体的抗逆功能。盐胁迫会抑制植物根系的伸长，减少根毛的数量甚至导致根尖坏死，进而影响植株养分获取和新陈代谢。此外，叶绿体是植物体内最敏感的细胞器之一[22]。在盐胁迫下，植株叶绿体片层结构逐渐降解，叶绿素含量下降，进而影响植物吸收营养，并进一步导致植物生长发育困难，严重时致使整棵植株死亡，因此研究植物抗盐渍化对我国农林产业的发展具有重要意义[23-25]。

转录因子在植物抗逆过程中具有不可或缺的作用，其与抗逆相关的顺式作用元件相互结合，能够激活整个抗逆基因网络，从而提高植物对胁迫环境的耐受性[26]。NF-X1 转录因子在自然界中普遍存在，其在植物的生长、发育以及抵御病虫害方面发挥着不可替代的作用[26]。研究表明，植物 *NF-X1* 基因的表达量主要与盐胁迫和生物胁迫相关，拟南芥中的 *NF-XL1* 基因能够在盐胁迫条件下调节其生长与光合作用[19]；小麦 *NF-X1* 基因家族成员具有抗叶锈病等重要作用[20]。目前对 NF-X1 转录因子的研究多集中于人类和细菌，对植物体内 NF-X1 转录因子的研究相对较少[26]。因此，研究 *NF-X1* 基因在八棱海棠体内的组织表达情况以及盐胁迫下的表达量，对苹果抗盐研究具有重要意义。

系统进化分析表明，聚集在同一类别的蛋白质可被认为具有相似的生物功能[27-28]。利用从拟南芥、毛果杨、玉米、葡萄、大豆基因网站中筛选出的 20 个 *NF-X1* 家族基因的氨基酸系列，与苹果 *NF-X1* 家族 4 个基因的氨基酸系列进行系统进化树分析，结果表明 24 个 *NF-X1* 家族基因可分为两大类，其中 MdNF-X1-1、MdNF-X1-2 与其他物种 10 个 NF-X1 家族基因的氨基酸系列聚为Ⅰ类；MdNF-X1-3、MdNF-X1-4 与其他物种另外 10 个 NF-X1 家族基因的氨基酸系列聚成Ⅱ类。Ⅰ类中 MdNF-X1-

1 与 VvNF-X1-2 亲缘关系最近,而 MdNF-X1-2 自成一支;Ⅱ类中 MdNF-X1-3 与 MdNF-X1-4 亲缘关系最近。在基因结构上,内含子数目暗示基因进化的保守性,内含子越少则基因具有更古老的保守性[29]。基因结构分析结果表明,*MdNF-X*1-1 与 *MdNF-X*1-2 均仅有 1 个内含子,说明进化过程中 *MdNF-X*1-1、*MdNF-X*1-2 较 *MdNF-X*1-3、*MdNF-X*1-4 更加保守。保守基序和保守结构域分析结果表明,*MdNF-X*1-1 与 *MdNF-X*1-2 结构非常相似,*MdNF-X*1-3 与 *MdNF-X*1-4 结构较为相似,相似结构可能使基因具有相似的生物学功能,同时这也暗示了 *NF-X*1 家族基因在功能上的差异,并在苹果遗传转化中发挥着重要作用。

本研究以八棱海棠为研究材料,通过 RT-qPCR 检测 *MdNF-X*1 基因的组织表达量。结果表明,*MdNF-X*1-1 与 *MdNF-X*1-3 在根中具有明显的表达优势,表达量显著高于其他组织,*MdNF-X*1-2 在根、叶和果实中表达量均较高,*MdNF-X*1-4 在各组织部位中表达均不明显。对八棱海棠进行盐胁迫处理后再次进行 RT-qPCR 检测,研究 *NF-X*1 家族基因的表达量,结果显示,*MdNF-X*1-1、*MdNF-X*1-2、*MdNF-X*1-3 与 *MdNF-X*1-4 均含有与抗盐相关的启动子元件 MYC,抗盐基因表达量受启动子元件的影响[30]。八棱海棠经过盐胁迫后,*MdNF-X*1-1、*MdNF-X*1-2、*MdNF-X*1-3 与 *MdNF-X*1-4 均在根部响应最强烈,其次是叶片。*NF-X*1 家族基因在八棱海棠各组织中的表达量,整体上均随着盐胁迫时间的延长而呈先上升后下降趋势,这是因为在盐胁迫条件下植株启动自身抗盐防御机制,通过诱导 *MdNF-X*1 转录因子调控抗盐相关基因应对盐的胁迫,此时这些基因的表达呈上升趋势;随着盐胁迫的持续,植株生理上需要建立稳定应对策略合成抗氧化物质或修复受损组织,*MdNF-X*1 基因的响应不再是植株的优先需求。同时,抗盐基因积累到一定程度后,植株受到负反馈调控作用[14-15],*MdNF-X*1 开始呈下降趋势。本研究表明,*MdNF-X*1-1 在苹果砧木八棱海棠根组织中的相对表达量最高,参与盐胁迫的应答反应,推测盐胁迫诱导了 *MdNF-X*1-1 基因的表达,这为进一步揭示其在抗盐中的具体功能提供了依据。

## [参考文献]


[1] ZHU J K. Abiotic stress signaling and responses in plants[J]. Cell,2016,167(2):313-324.

[2] YANG Y Q,GUO Y. Unraveling salt stress signaling in plants[J]. Journal of Integrative Plant Biology,2018,60(9):796-804.

[3] HANIN M,EBEL C,NGOM M,et al. New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding[J]. Frontiers in Plant Science,2016,7:1787.

[4] DEINLEIN U,STEPHAN A B,HORIE T,et al. Plant salt-tolerance mechanisms[J]. Trends in Plant Science,2014,19(6):371-379.

[5] 刘子金,徐存东,朱兴林,等. 干旱荒漠区人工绿洲土壤盐碱化风险综合评估与演变分析[J]. 中国环境科学,2022,42(1):367-379.
LIU Z J,XU C D,ZHU X L,et al. Comprehensive assessment and evolution analysis of soil salinization in artificial oasis in arid desert area[J]. China Environmental Science,2022,42(1):367-379.

[6] 任仓钰. 西北地区盐渍土形成特点及开发利用[J]. 水土保持通报,2002,22(4):77-78.
REN C Y. Formation characters and exploitation of saline-alkali soil in northwest China[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation,2002,22(4):77-78.

[7] YU L,LIU W J,GUO Z W,et al. Interaction between *MdMYB*63 and *MdERF*106 enhances salt tolerance in apple by mediating $Na^+/H^+$ transport[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2020,155:464-471.

[8] 吴玉霞,马兰,何天明. 苹果砧木八棱海棠和新疆野苹果耐盐性的比较[J]. 北方果树,2018(2):4-7.
WU Y X,MA L,HE T M. Comparison of salt tolerance of apple rootstock *Malus robusta* Rehd and *Malus sieversii* Roem[J]. Northern Fruits,2018(2):4-7.

[9] 高光林,姜卫兵,俞开锦,等. 盐胁迫对果树光合生理的影响[J]. 果树学报,2003,20(6):493-497.
GAO G L,JIANG W B,YU K J,et al. A review of studies on effect of salt stress on photosynthesis in fruit crops[J]. Journal of Fruit Science,2003,20(6):493-497.

[10] 查仁明,许雪峰,韩振海. NaCl 胁迫下珠眉海棠苹果中 $Na^+$ 的组织细胞定位研究[J]. 核农学报,2001,15(4):224-228.
ZHA R M,XU X F,HAN Z H. Localization of $Na^+$ in thissues of *Malus zumi* under NaCl stress[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences,2001,15(4):224-228.

[11] 宗鹏鹏,曲艳华,柴朋,等. 八棱海棠耐盐碱性评价[J]. 中国农业大学学报,2013,18(3):96-100.
ZONG P P,QU Y H,CHAI P,et al. Evaluation on the resistance of *Malus robusta* Rehd to alkalinity and salinity[J]. Journal of China Agricultural University,2013,18(3):96-100.

[12] 马翠兰,刘星辉,陈中海. 果树对盐胁迫的反应及耐盐性鉴定的研究进展[J]. 福建农业大学学报,2000,29(2):161-166.
MA C L,LIU X H,CHEN Z H. Advances in response of fruit trees to salt stress and their salt-tolerance identification[J]. Journal of Fujian Agricultural University,2000,29(2):161-166.

[13] 何天明，吴玉霞，孙连成. 新疆苹果生产现状的调查与思考[J]. 新疆农垦科技，2011，34(4)：22-25.
HE T M，WU Y X，SUN L C. Investigation and reflection of *Malus sieversii* Roem production status[J]. Xinjiang Farm Research of Science and Technology，2011，34(4)：22-25.

[14] 王梦瑜. 苹果 NF-Y 家族成员的鉴定及 *MdNF-YA8* 响应盐胁迫的功能研究[D]. 山东泰安：山东农业大学，2022.
WANG M Y. Identification of NF-Y gene family in apple and investigation on the function of *MdNF-YA8* in response to salt stress[D]. Taian，Shandong：Shandong Agricultural University，2022.

[15] 孙绍营. 盐胁迫下细叶百合转录组分析及 *LpNAC14* 抗盐功能验证[D]. 哈尔滨：东北林业大学，2022.
SUN S Y. Transcriptome analysis of *Lilium pumilum* under salt stress and verification of salt-tolerance function of *LpNAC14*[D]. Harbin：Northeast Forestry University，2022.

[16] SONG Z，KRISHNA S，THANOS D，et al. A novel cysteine-rich sequence-specific DNA-binding protein interacts with the conserved X-box motif of the human major histocompatibility complex class Ⅱ genes *via* a repeated Cys-His domain and functions as a transcriptional repressor[J]. Journal of Experimental Medicine，1994，180(5)：1763-1774.

[17] RIGHETTI K，VU J L，PELLETIER S，et al. Inference of longevity-related genes from a robust coexpression network of seed maturation identifies regulators linking seed storability to biotic defense-related pathways[J]. The Plant Cell，2015，27(10)：2692-2708.

[18] MÜSSIG C，SCHRÖDER F，USADEL B，et al. Structure and putative function of NFX1-like proteins in plants[J]. Plant Biology，2010，12(3)：381-394.

[19] LISSO J，ALTMANN T，MÜSSIG C. The *AtNFXL1* gene encodes a NF-X1 type zinc finger protein required for growth under salt stress[J]. FEBS Letters，2006，580(20)：4851-4856.

[20] SATAPATHY L，MUKHOPADHYAY K. Transcriptome-wide analysis of NFX1 transcription factors in wheat (*Triticum aestivum* L.) and their leaf rust responsive expression profiling[J]. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences，2016，8(2)：60-65.

[21] MUNNS R，TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology，2008，59：651-681.

[22] GIEHL R F H，GRUBER B D，VON WIRÉN N. It's time to make changes：modulation of root system architecture by nutrient signals[J]. Journal of Experimental Botany，2014，65(3)：769-778.

[23] 邹丽娜，周志宇，颜淑云，等. 盐分胁迫对紫穗槐幼苗生理生化特性的影响[J]. 草业学报，2011，20(3)：84-90.
ZOU L N，ZHOU Z Y，YAN S Y，et al. Effect of salt stress on physiological and biochemical characteristics of *Amorpha fruticosa* seedlings[J]. Acta Prataculturae Sinica，2011，20(3)：84-90.

[24] YUAN Y H，SHU S，LI S H，et al. Effects of exogenous putrescine on chlorophyll fluorescence imaging and heat dissipation capacity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) under salt stress[J]. Journal of Plant Growth Regulation，2014，33(4)：798-808.

[25] ZHAO C Z，ZHANG H，SONG C P，et al. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity[J]. The Innovation，2020，1(1)：100017.

[26] HE F，SHI Y J，MI J X，et al. Genome-wide investigation of the *NF-X1* gene family in *Populus trichocarpa* expression profiles during development and stress[J]. International Journal of Molecular Sciences，2021，22(9)：4664-4664.

[27] WANG S M，YAMAGUCHI M，GRIENENBERGER E，et al. The class Ⅱ KNOX genes *KNAT3* and *KNAT7* work cooperatively to influence deposition of secondary cell walls that provide mechanical support to *Arabidopsis* stems[J]. The Plant Journal：for Cell and Molecular Biology，2020，101(2)：293-309.

[28] XIONG H Z，SHI A N，WU D X，et al. Genome-wide identification，classification and evolutionary expansion of *KNOX* gene family in rice (*Oryza sativa*) and populus (*Populustrichocarpa*)[J]. American Journal of Plant Sciences，2018，9(6)：1071-1092.

[29] 贺红利，朴京培，孙嘉囡，等. 蒺藜苜蓿 *CIPK* 基因家族全基因组鉴定及表达分析[J]. 中国草地学报，2021，43(9)：1-13.
HE H L，PIAO J P，SUN J N，et al. Genome-wide identification and expression analysis of *CIPK* gene family in *Medicago truncatula*[J]. Chinese Journal of Grassland，2021，43(9)：1-13.

[30] DANINO Y M，EVEN D，IDESES D，et al. The core promoter：at the heart of gene expression[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms，2015，1849(8)：1116-1131.

（责任编辑：温晓平）