

卞晓春, 王 凡, 刘陈玮, 等. 蚕豆 NAC 转录因子家族鉴定分析及抗叶斑病基因筛选[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(9): 1683-1695.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.09.003

# 蚕豆 NAC 转录因子家族鉴定分析及抗叶斑病基因筛选

卞晓春, 王 凡, 刘陈玮, 徐仁超, 陆红臣, 吴春芳

(江苏沿江地区农业科学研究所/南通市作物春化技术重点实验室, 江苏 南通 226012)

**摘要:** NAC 转录因子在植物生长发育及逆境胁迫响应中具有重要作用。为明确蚕豆(*Vicia faba* L.) NAC 转录因子的功能, 本研究利用生物信息学方法从蚕豆基因组数据库中鉴定蚕豆 NAC 家族基因成员, 分析其基因结构、启动子顺式作用元件、染色体分布以及编码蛋白质的理化性质等, 结合造成蚕豆叶斑病的病原菌链格孢菌(*Alternaria alternata*) 侵染的蚕豆转录组数据筛选与抗病相关的候选基因。结果表明, 蚕豆 NAC 转录因子基因家族共有 77 个成员, 不均匀分布于 6 条染色体上, 其编码的蛋白质大小介于 133 aa 至 665 aa 之间; VfNAC 蛋白分为 16 个亚家族, 均含有 NAM 保守结构域, 均定位于细胞核。VfNAC 基因启动子上包含光响应元件、激素响应元件、干旱响应元件等多种顺式作用元件。转录组测序结果显示, 链格孢菌侵染后蚕豆中有 33 个 VfNAC 基因差异表达, 筛选出 4 个差异表达显著的基因作为关键抗病候选基因进一步研究。本研究为蚕豆 NAC 转录因子后续的生物功能解析及抗病分子机制研究提供了参考。

**关键词:** 蚕豆; NAC 转录因子; 链格孢菌; 抗病基因

**中图分类号:** S435.23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)09-1683-13

## Identification of NAC transcription factor family in *Vicia faba* L. and screening of genes resistant to leaf spot

BIAN Xiaochun, WANG Fan, LIU Chenwei, XU Renchao, LU Hongchen, WU Chunfang

(*Jiangsu Yanjiang Institute of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Crop Vernalization Technology of Nantong City, Nantong 226012, China*)

**Abstract:** The NAC transcription factors play important roles in plant growth and development as well as in responses to abiotic and biotic stresses. To clarify the functions of NAC transcription factors in *Vicia faba* L., in this study, bioinformatic methods were used to identify the members of the NAC family genes from the *Vicia faba* genome database. The gene structures, *cis*-acting elements in promoters, chromosomal distributions, and the physicochemical properties of the proteins encoded by these genes were analyzed. By integrating the transcriptome data of *Vicia faba* infected by *Alternaria alternata* (the pathogen causing leaf spot in *Vicia faba*), candidate genes related to disease resistance were screened. The results showed that there were 77 members in the NAC transcription factor gene family of *Vicia faba*, which were unevenly distributed on six chromosomes. The encoded proteins ranged in size from 133 aa to 665 aa. The VfNAC proteins were

divided into 16 subfamilies, all of which contained the conserved NAM domain and were localized to the nucleus. The promoters of VfNAC genes contained various *cis*-acting elements such as light-responsive elements, hormone-responsive elements, and drought-responsive elements. The transcriptome sequencing results showed that 33 VfNAC genes were differentially expressed in *Vicia faba* infected by *Alternaria alternata*, and four genes exhibiting significant differential expression were selected as key candidate

收稿日期: 2024-10-18

基金项目: 江苏省种业揭榜挂帅项目[JBGS(2021)058]; 江苏现代农业产业技术体系建设专项[JATS(2023)158]; 江苏省重点研发计划(现代农业)项目(BE2021389); 江苏沿江地区农业科学研究所青年科技基金项目[YJ(2022)009]

作者简介: 卞晓春(1987-), 男, 江苏盐城人, 硕士, 副研究员, 主要从事蚕豆抗病遗传育种。(E-mail) oneise@163.com

通讯作者: 吴春芳, (E-mail) jsyias@163.com

disease-resistance genes for further study. This study provides a reference for the subsequent analysis of the biological functions of NAC transcription factors in *Vicia faba* and the research on the molecular mechanisms of disease resistance.

**Key words:** *Vicia faba* L.; NAC transcription factor; *Alternaria alternata*; disease resistance genes

病原菌、虫害、草害等生物胁迫严重影响作物生长发育,导致作物产量和品质下降。作物被病原菌侵染后会激活一系列防御信号进行抵抗,转录因子在防御信号传递过程中发挥重要作用<sup>[1]</sup>。研究结果表明,NAC 转录因子可以通过直接调控抗病基因表达、调节超敏反应以及整合水杨酸、茉莉酸等激素信号响应通路的方式参与作物抗病反应<sup>[2]</sup>。NAC 转录因子是植物特有的转录家族之一,参与调节植物生长发育的多种生物学过程,包括茎和根顶端分生组织形成、植物形态的建立、果实成熟等<sup>[3-5]</sup>,在植物响应生物胁迫和非生物胁迫过程中发挥重要的调控作用<sup>[6]</sup>,比如小麦 NAC 转录因子可以提高对赤霉病的抗性<sup>[7]</sup>,*OsNAC2* 转录因子基因可降低水稻对白叶枯病的抗性<sup>[8]</sup>、*SINAP2* 转录因子基因可提高番茄对青枯病的抗性<sup>[9]</sup>、*GmNAC06* 转录因子基因可提高大豆的耐盐性<sup>[10]</sup>、*GsNAC1* 转录因子基因可增强大豆对低磷胁迫的耐受性<sup>[11]</sup>、*NtabNAC087* 转录因子基因可提高烟草的耐旱性<sup>[12]</sup>等。近年来,随着测序技术和生物信息学的不断发展完善,不同植物中越来越多的 NAC 转录因子被鉴定出来。植物转录因子数据库(<https://plantfdb.gao-lab.org/>)共收录了来自 150 个物种的 19 997 个 NAC 转录因子,其中拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)有 138 个、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)有 123 个。

蚕豆(*Vicia faba* L.)是豆科(Leguminosae)蝶形花亚科(Papilionoideae)野蚕豆族(Viceae)巢菜属(*Vicia* L.)下唯一的栽培种,作为重要的粮、蔬、饲兼用作物,有较好的固氮能力<sup>[13]</sup>。中国是世界上蚕豆生产大国,同时也是消费大国之一。受气候变化以及人类活动等因素的影响,蚕豆病虫害越发严重,近年来由链格孢菌(*Alternaria alternata*)引起的蚕豆叶斑病在全球范围内多有发生,造成严重经济损失<sup>[14-15]</sup>。因此加强蚕豆抗叶斑病的研究,挖掘抗病相关基因,后续利用基因工程开展种质创新、育种等,对提高蚕豆产量、增加种植户收益具有重要意义。目前 NAC 转录因子在蚕豆中未见相关报道,鉴于此,本研究在蚕豆全基因组范围内鉴定 NAC 转录因子家族成员,开展蛋白质性质、系统进化关系、顺

式作用元件、染色体定位等生物信息学分析,结合蚕豆受链格孢菌侵染后的转录组数据,筛选蚕豆抗链格孢菌相关 NAC 转录因子基因,为进一步研究蚕豆 NAC 转录因子基因功能及抗病育种应用提供理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 蚕豆 NAC 基因家族的全基因组鉴定与理化性质分析

从蚕豆基因组数据库(<https://projects.au.dk/fabagenome/genomics-data>)下载蚕豆全基因组序列数据及相应注释文件,从 Pfam 数据库(<https://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/pfam/#table>)获取 NAC 结构域(PF02365)对应的隐马尔可夫模型(HMM)文件<sup>[16]</sup>。运用 TBtools 软件中的 Simple HMM Search 功能,对蚕豆 NAC 基因家族成员进行初步筛选<sup>[17]</sup>。随后,通过 NCBI 网站的 Batch CD-Search Tool(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>)对初筛得到的候选基因序列进行结构域分析,严格验证其是否含有完整的 NAC 结构域,以此最终确定蚕豆 VfNAC 基因家族成员。

利用 ExPASy 网站(<https://web.expasy.org/prot-param/>)的 ProtParam 工具对 VfNAC 家族蛋白质的氨基酸残基数量、理论相对分子量、等电点等基础理化性质进行系统分析;借助 Cell-PLoc 2.0 在线工具(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>)预测 VfNAC 家族蛋白质的亚细胞定位信息。

### 1.2 VfNAC 家族成员氨基酸序列比对与系统进化树构建

从 PlantTFDB 数据库(<https://plantfdb.gao-lab.org/>)下载拟南芥 NAC 家族的 105 条蛋白质氨基酸序列数据。采用 MEGA 11 软件,对蚕豆和拟南芥 NAC 家族的蛋白质氨基酸序列进行多序列比对,并构建系统发育树。其中,序列比对参数设置为软件默认参数;系统发育树的构建方法采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ),Bootstrap 重复检验次数设定为 1 000 次。使用 Evolview 在线软件(<http://www.evolgenius.info/evolview>)对构建的系统发育树进行可视化编辑与美

化。参考 Yan 等<sup>[18]</sup> 和 Li 等<sup>[19]</sup> 提出的分类标准,将 VfnAC 家族蛋白质划分至不同的亚家族类别。

### 1.3 VfnAC 基因结构、保守基序和顺式作用元件分析

利用 TBtools 软件对 VfnAC 基因结构进行分析,获取 VfnAC 家族基因外显子和内含子位置;应用 NCBI 网站的 CDD 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>) 分析 VfnAC 蛋白的保守结构域的类型和位置。通过 MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 分析 VfnAC 蛋白的保守基序,设置最大 motif 为 10,其余参数设置为默认值。利用 TBtools 提取 VfnAC 基因上游 2 000 bp 的启动子序列,通过 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 预测启动子中的顺式作用元件<sup>[20]</sup>。最后利用 TBtools 进行可视化。

### 1.4 VfnAC 基因的染色体定位和共线性分析

基于蚕豆基因组及注释文件,通过 TBtools 绘制 VfnAC 基因的染色体定位图。对 VfnAC 基因进行共线性分析,绘制共线性分析图。在 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/>) 下载拟南芥基因组和豆科模式植物蒺藜苜蓿基因组数据,利用 TBtools 中 MCscanX 对蚕豆与拟南芥、蒺藜苜蓿进行共线性分析,VfnAC 基因高亮显示。利用每个非同

义位点的非同义取代数 ( $K_a$ ) 与每个同义位点的同义取代数的比率 ( $K_s$ ) 计算  $K_a/K_s$  值。

### 1.5 VfnAC 基因在链格孢菌侵染后的表达特征分析

以江苏沿江地区农业科学研究所保存的蚕豆种质 CD006、链格孢菌 VFL10 菌株为供试材料。蚕豆种子在清水中浸泡过夜,放置于纱布上催芽,2 d 后播种于装有营养土的花盆中,置于人工气候箱中,培养条件为 12 h 光照、12 h 黑暗,光照度为 30 000 lx,温度 24 ℃,相对湿度 60%。链格孢菌 VFL10 菌株接种到 PDA 培养基上,25 ℃ 黑暗培养 5 d。蚕豆生长至 4 叶 1 心时轻微划伤上部叶片,挑选菌落边缘直径 9 mm 菌饼进行接种,以接种 PDA 培养基的蚕豆作为对照 (CK)。分别在接种后 0 h、6 h、12 h、24 h 取样,0 h、6 h、12 h、24 h 分别用 T0、T6、T12、T24 表示,每个样本取 3 张叶片混样,每个时间点取 3 个生物学重复,样本保存在 -80 ℃ 冰箱中,之后送至广州基迪奥生物科技有限公司进行转录组测序。基于蚕豆接种链格孢菌 VFL10 菌株后的转录组数据,绘制 VfnAC 基因表达模式热图。利用 qRT-PCR 对筛选的蚕豆 NAC 基因进行表达验证,特异性引物使用 Primer Premier 5 设计 (表 1),内参基因为 *VjELF1A*,采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算基因表达量。

表 1 筛选的蚕豆 NAC 转录因子基因和内参基因的引物信息

Table 1 Primer information of the selected *Vicia faba* NAC transcription factor genes and internal reference genes

基因	正向引物 (5'→3')	反向引物 (5'→3')
<i>VjELF1A</i>	GTGAAGCCCGGTATGCTTGT	CTTGAGATCCTTGACTGCAACATT
<i>VfnAC9</i>	GATGATTGGGTTTCTGTCCG	AATGATGAAATCTTGTCCGCC
<i>VfnAC13</i>	TATTGGAAGGCAACAGGTAAGAC	GGCTCTTTTGGATGTATTTTTC
<i>VfnAC24</i>	ATGCTAATGAACAAGAATCGGTG	CATTTCAACCATTTGTGGCTTT
<i>VfnAC46</i>	CTACAACATGAAGAGAGCAGGCAG	CCAATAGAAACCCACAAGAAAGC
<i>VfnAC51</i>	ATTTAGGAACCCACGGAAGA	CAAGCCCGACAAAAACACATT
<i>VfnAC72</i>	TGAGAATGAGACGAAGCCTAAGA	TGAAAATCAAACGCCGACACT

## 2 结果与分析

### 2.1 蚕豆基因组中 NAC 家族基因的鉴定

通过 HMMER 3.0 在蚕豆基因组中搜索到 79 条编码 NAC 蛋白质的候选 DNA 序列,其中有 2 条序列 (Vfaba.Hedin2.R1.6g075200.1 和 Vfaba.Hedin2.R1.6g116240.1) 不含编码 NAC 结构域的序列。最终,在蚕豆基因组中鉴定到 77 个编码 NAC 蛋白的基因 (表 2),根据它们的染色体

位置分别命名为 *VfnAC1*~*VfnAC77*,分析 VfnAC 蛋白的氨基酸数量、相对分子量、理论等电点、亚细胞定位等理化性质。从表 2 可知,在 77 个 VfnAC 蛋白中,氨基酸数量从 133 aa (VfnAC25) 至 665 aa (VfnAC20)。等电点范围从 4.39 (VfnAC70) 到 10.52 (VfnAC25),大多数等电点 < 7.00,表明该家族基因编码的蛋白质偏酸性。对蚕豆 VfnAC 蛋白进行亚细胞定位预测,发现 VfnAC 蛋白均定位于细胞核中。

表 2 蚕豆 *VfNAC* 基因家族成员特征Table 2 Characteristics of *VfNAC* gene family members in *Vicia faba*

基因名称	基因编号	编码的蛋白质					
		氨基酸数量(aa)	相对分子量	等电点	不稳定指数	脂肪指数	亚细胞定位
<i>VfNAC1</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g000960.1	232	26 016.40	8.86	36.42	68.53	细胞核
<i>VfNAC2</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g008720.1	210	24 348.48	8.55	51.16	62.24	细胞核
<i>VfNAC3</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g008760.1	210	24 288.44	8.50	51.56	62.24	细胞核
<i>VfNAC4</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g009920.1	330	38 096.87	5.58	33.95	68.48	细胞核
<i>VfNAC5</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g042160.1	292	34 212.42	6.18	46.48	62.09	细胞核
<i>VfNAC6</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g046440.1	253	28 895.28	6.27	45.29	63.48	细胞核
<i>VfNAC7</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g061560.1	369	41 757.87	7.17	56.12	62.63	细胞核
<i>VfNAC8</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g062040.1	252	29 092.28	5.94	50.73	53.69	细胞核
<i>VfNAC9</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g073440.1	356	39 788.31	8.84	38.41	59.72	细胞核
<i>VfNAC10</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g077480.1	382	42 435.09	8.16	42.64	51.34	细胞核
<i>VfNAC11</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g077560.1	234	26 729.11	9.45	35.52	55.47	细胞核
<i>VfNAC12</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g087960.1	240	27 786.13	4.90	56.15	59.29	细胞核
<i>VfNAC13</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g133600.1	336	39 015.76	5.24	43.40	58.30	细胞核
<i>VfNAC14</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g135240.1	390	44 812.33	6.83	41.91	62.49	细胞核
<i>VfNAC15</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g183160.1	324	37 569.22	6.34	34.44	67.69	细胞核
<i>VfNAC16</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g187880.1	305	35 021.39	8.70	33.11	66.79	细胞核
<i>VfNAC17</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g187920.1	311	35 821.87	6.87	36.16	66.08	细胞核
<i>VfNAC18</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g190760.1	310	35 215.73	7.60	40.93	59.45	细胞核
<i>VfNAC19</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g201400.1	422	47 582.95	4.91	42.97	71.30	细胞核
<i>VfNAC20</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g221440.1	665	74 555.81	4.84	49.56	67.29	细胞核
<i>VfNAC21</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g269560.1	309	35 997.47	7.13	36.80	56.08	细胞核
<i>VfNAC22</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g300720.1	337	38 793.62	5.04	40.09	57.03	细胞核
<i>VfNAC23</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g321680.1	392	45 203.60	7.00	41.26	62.91	细胞核
<i>VfNAC24</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g324680.1	271	31 116.95	8.60	25.94	58.97	细胞核
<i>VfNAC25</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g347920.1	133	14 982.08	10.52	39.51	60.98	细胞核
<i>VfNAC26</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g355360.1	350	40 368.31	5.20	49.93	67.69	细胞核
<i>VfNAC27</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g376320.1	335	37 683.89	5.10	44.41	54.72	细胞核
<i>VfNAC28</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g403280.1	198	22 934.34	6.36	44.81	53.18	细胞核
<i>VfNAC29</i>	Vfaba.Hedin2.R1.1g471920.1	295	33 226.39	7.26	45.05	67.69	细胞核
<i>VfNAC30</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g028400.1	275	31 793.25	8.84	34.23	64.47	细胞核
<i>VfNAC31</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g031720.1	527	58 559.58	4.75	36.36	74.38	细胞核
<i>VfNAC32</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g068160.1	648	74 655.19	6.00	34.92	68.55	细胞核
<i>VfNAC33</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g120160.1	287	32 903.27	7.05	58.48	58.47	细胞核
<i>VfNAC34</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g137880.1	547	61 423.41	5.46	47.28	66.34	细胞核
<i>VfNAC35</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g148560.1	353	39 234.21	4.89	42.61	76.77	细胞核
<i>VfNAC36</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g151720.1	291	33 828.94	5.89	35.50	60.24	细胞核
<i>VfNAC37</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g191560.1	309	34 728.85	8.20	25.45	57.70	细胞核
<i>VfNAC38</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g212840.1	349	40 199.38	6.42	39.87	67.36	细胞核
<i>VfNAC39</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g223120.1	346	40 529.38	5.64	44.04	63.93	细胞核
<i>VfNAC40</i>	Vfaba.Hedin2.R1.2g225640.1	360	42 053.88	6.74	39.08	52.50	细胞核
<i>VfNAC41</i>	Vfaba.Hedin2.R1.3g058440.1	275	31 697.63	5.73	34.05	68.73	细胞核
<i>VfNAC42</i>	Vfaba.Hedin2.R1.3g108160.1	610	67 396.26	4.52	35.27	75.16	细胞核
<i>VfNAC43</i>	Vfaba.Hedin2.R1.3g108200.1	469	52 922.81	6.96	54.04	67.76	细胞核
<i>VfNAC44</i>	Vfaba.Hedin2.R1.3g115480.1	482	55 089.05	5.20	38.21	79.75	细胞核
<i>VfNAC45</i>	Vfaba.Hedin2.R1.3g123720.1	309	35 959.76	6.13	48.99	57.41	细胞核
<i>VfNAC46</i>	Vfaba.Hedin2.R1.3g125480.1	566	64 181.48	4.59	52.41	63.37	细胞核

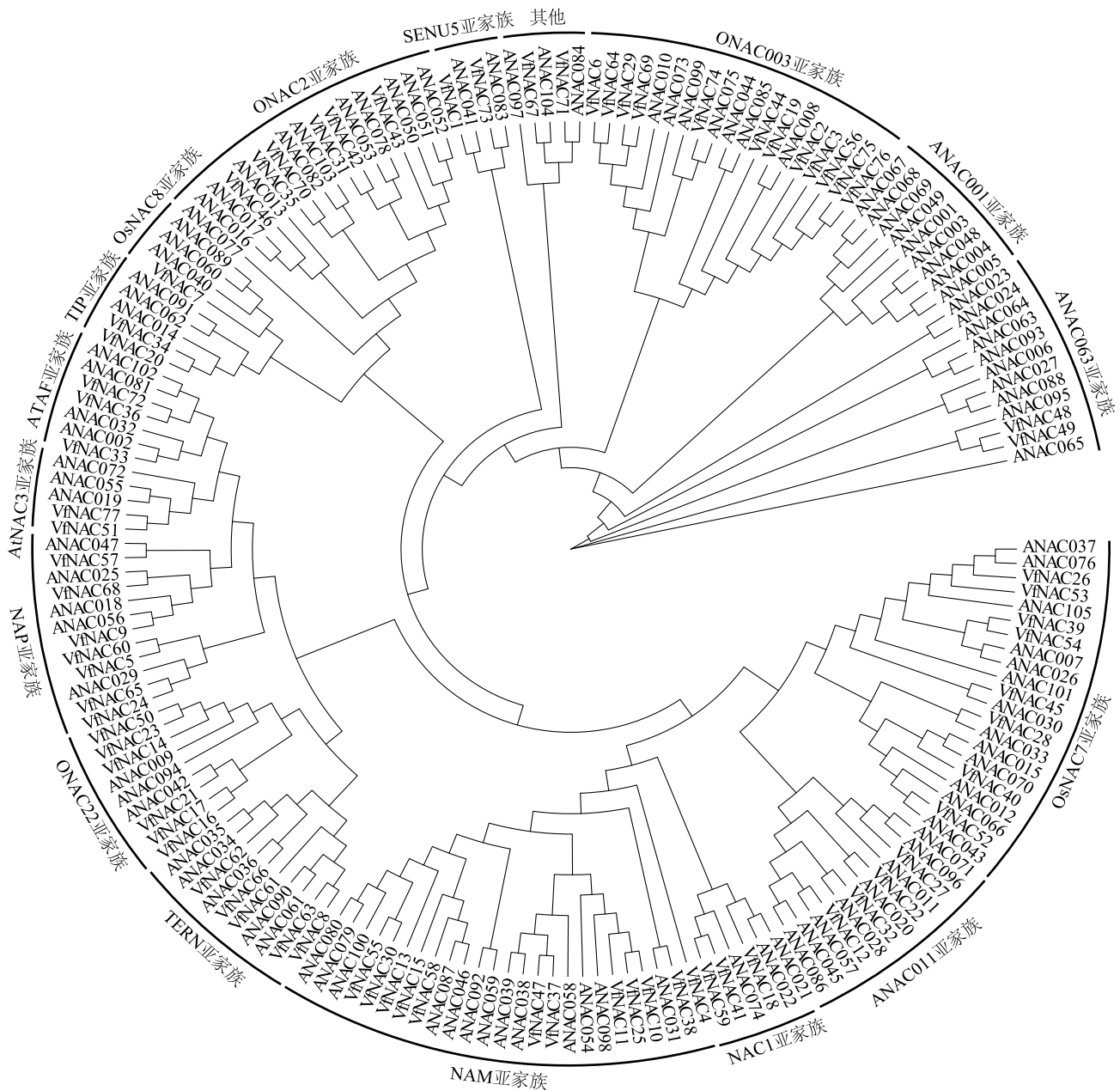
续表2 Continued2

基因名称	基因编号	编码的蛋白质					
		氨基酸数量(aa)	相对分子量	等电点	不稳定指数	脂肪指数	亚细胞定位
VfNAC47	Vfaba.Hedin2.R1.3g198520.1	366	41 109.97	8.91	30.74	58.55	细胞核
VfNAC48	Vfaba.Hedin2.R1.3g225080.1	379	44 413.77	5.76	47.64	67.39	细胞核
VfNAC49	Vfaba.Hedin2.R1.3g225160.1	356	41 719.01	8.57	46.48	67.67	细胞核
VfNAC50	Vfaba.Hedin2.R1.4g008200.1	391	44 111.86	8.64	42.83	67.85	细胞核
VfNAC51	Vfaba.Hedin2.R1.4g016680.1	331	37 250.77	6.26	38.08	58.58	细胞核
VfNAC52	Vfaba.Hedin2.R1.4g052320.1	428	48 224.20	6.19	43.59	61.29	细胞核
VfNAC53	Vfaba.Hedin2.R1.4g114480.1	308	35 979.82	6.47	56.44	71.82	细胞核
VfNAC54	Vfaba.Hedin2.R1.4g143400.1	372	43 199.79	6.31	46.92	58.41	细胞核
VfNAC55	Vfaba.Hedin2.R1.4g164160.1	349	39 673.62	8.76	34.52	66.45	细胞核
VfNAC56	Vfaba.Hedin2.R1.5g019920.1	396	44 656.47	5.00	44.78	66.26	细胞核
VfNAC57	Vfaba.Hedin2.R1.5g087640.1	341	38 859.96	8.93	39.90	71.79	细胞核
VfNAC58	Vfaba.Hedin2.R1.5g087800.1	383	43 727.01	6.27	37.39	61.10	细胞核
VfNAC59	Vfaba.Hedin2.R1.5g125520.1	301	34 891.99	5.77	39.13	70.60	细胞核
VfNAC60	Vfaba.Hedin2.R1.5g136600.1	323	37 205.03	7.66	43.20	67.93	细胞核
VfNAC61	Vfaba.Hedin2.R1.5g151280.1	249	28 760.49	6.01	59.48	58.23	细胞核
VfNAC62	Vfaba.Hedin2.R1.6g001080.1	427	48 129.68	6.64	40.30	61.87	细胞核
VfNAC63	Vfaba.Hedin2.R1.6g019960.1	271	30 971.53	7.61	42.49	54.61	细胞核
VfNAC64	Vfaba.Hedin2.R1.6g074600.1	285	32 266.21	8.42	39.94	66.63	细胞核
VfNAC65	Vfaba.Hedin2.R1.6g078960.1	273	31 580.77	7.65	47.71	64.98	细胞核
VfNAC66	Vfaba.Hedin2.R1.6g086120.1	313	36 276.24	6.41	43.95	70.00	细胞核
VfNAC67	Vfaba.Hedin2.R1.6g096680.1	198	22 888.34	4.94	54.60	68.33	细胞核
VfNAC68	Vfaba.Hedin2.R1.6g110520.1	358	40 063.36	7.24	45.29	56.96	细胞核
VfNAC69	Vfaba.Hedin2.R1.6g115400.1	318	36 257.71	6.64	45.83	67.11	细胞核
VfNAC70	Vfaba.Hedin2.R1.6g155960.1	537	58 362.39	4.39	59.69	59.20	细胞核
VfNAC71	Vfaba.Hedin2.R1.6g156640.1	181	20 996.22	5.17	47.47	58.62	细胞核
VfNAC72	Vfaba.Hedin2.R1.6g157960.1	291	33 649.82	5.67	30.52	60.31	细胞核
VfNAC73	Vfaba.Hedin2.R1.6g165240.1	236	26 898.13	8.97	44.70	55.72	细胞核
VfNAC74	Vfaba.Hedin2.R1.6g184920.1	491	55 496.23	6.66	48.34	58.17	细胞核
VfNAC75	Vfaba.Hedin2.R1.6g194240.1	230	26 396.73	8.63	42.54	56.39	细胞核
VfNAC76	Vfaba.Hedin2.R1.6g194280.1	230	26 336.63	8.63	42.00	56.39	细胞核
VfNAC77	Vfaba.Hedin2.R1.Ung031520.1	306	34 596.89	8.50	36.97	64.90	细胞核

## 2.2 VfNAC 转录因子家族系统发育

将 77 个 VfNAC 转录因子和 105 个拟南芥 NAC 转录因子家族成员构建系统发育树(图 1),结果显示蚕豆和拟南芥 NAC 家族成员被分为 17 组,其中 16 组对应 16 个亚家族(分别为 NAM 亚家族、ONAC003 亚家族、OsNAC7 亚家族、NAP 亚家族、ONAC2 亚家族、ONAC22 亚家族、TERN 亚家族、ANAC011 亚家族、NAC1 亚家族、ATAF 亚家族、AtNAC3 亚家族、TIP 亚家族、SENU5 亚家族、ANAC063 亚家族、OsNAC8 亚家族、ANAC001 亚家族),剩余 1 组(Other)没有聚类到任何亚家族中。

VfNAC 成员最多的是 NAM 亚家族和 ONAC003 亚家族(12 个),其他依次是 OsNAC7 亚家族(8 个),NAP 亚家族(7 个),ONAC2 亚家族和 ONAC22 亚家族(分别有 6 个),TERN 亚家族(5 个),ANAC011 亚家族(4 个),NAC1 亚家族和 ATAF 亚家族(分别有 3 个),AtNAC3 亚家族、TIP 亚家族、SENU5 亚家族和 ANAC063 亚家族(分别有 2 个),OsNAC8 亚家族(1 个),除了 ANAC001 亚家族中未鉴定到蚕豆 NAC 家族成员,其他亚族中均包含蚕豆和拟南芥 NAC 家族成员,多个 VfNAC 与 AtNAC 紧密聚集,表明这些蛋白质具有高度同源性和相似的基因功能。



ANAC001~ANAC105 为拟南芥 NAC 转录因子成员;VfNAC01~VfNAC77 为蚕豆 NAC 转录因子成员。

图 1 蚕豆和拟南芥 NAC 转录因子的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of NAC transcription factors in *Vicia faba* and *Arabidopsis thaliana*

### 2.3 蚕豆 NAC 转录因子基因家族的基因结构、启动子及编码蛋白质结构域、保守基序

为了解蚕豆 NAC 转录因子基因家族的基因结构等信息,基于蚕豆基因组序列构建了基因结构图(图 2),包括编码序列(CDS)、内含子和外显子(图 2A)。结果显示,77 个 VfNAC 基因都包含不同数量的外显子,除 VfNAC2、VfNAC3 和 VfNAC25 以外,其他 VfNAC 基因均含有内含子。其中 49 个 VfNAC 基

因含有 2 个内含子,13 个 VfNAC 基因含有 3 个内含子,4 个 VfNAC 基因含有 4 个内含子,3 个 VfNAC 基因含有 5 个内含子,3 个 VfNAC 基因含有 6 个内含子,2 个 VfNAC 基因含有 1 个内含子。

在蚕豆基因组中鉴定到的 77 个 NAC 家族基因成员中,编码的蛋白质均含有至少 1 个典型的 NAM 结构域。除 NAM 结构域外,有 2 个 VfNAC 蛋白还含有其他结构域,ANAC011 亚家族中的 VfNAC32 包含

1 个类凝集素超家族 (Malectin\_like superfamily) 结构域, ONAC2 亚族中的 VfNAC70 含有 1 个 PHA003247 超家族 (PHA003247 superfamily) 结构域 (图 2B)。为了进一步研究 VfNAC 基因家族在进化过程中变化的多样性, 本研究对 77 个 VfNAC 蛋白的保守基序 (motif) 进行了分析, 结果 (图 2C) 显示, 不同 VfNAC 蛋白中含有 motif 数量在 2~9 个不等, 绝大多数成员含有 6 个 motif, 同一亚族的 VfNAC 蛋白具有基本一致的保守基序。ONAC003 亚家族成员的保守基序数量最多, 大部分含有 8~9 个 motif, 而且其 motif 以 8-3-9-4-7-10-5-2-6 顺序为主, ONAC003 亚家族成员均不含有 motif1, motif7、motif8、motif9、motif10 则仅存在于 ONAC003 亚家族中, 表明这些 motif 可能与 ONAC003 亚族成员的特定功能相关。在蚕豆 NAC 家族中, 有 55 个 VfNAC 中 motif 排列顺序为 3-4-1-5-2-6, 分别对应 NAM 结构域的 5 个特征基序, 说明蚕豆 NAC 家族成员具有高度的保守性。

本研究预测 VfNAC 基因启动子序列中顺式作用元件, 共鉴定出了光响应元件、激素响应元件、昼夜节律调控以及干旱、低温、创伤等胁迫响应的多种顺式作用元件 (表 3)。其中光响应元件分布最广, 在所有 VfNAC 基因启动子区域都存在, 除光响应元件外, 激素响应元件在 VfNAC 基因的启动子区域分布也非常广泛。激素响应元件按数量从多到少分别是茉莉酸甲酯相应元件、脱落酸响应元件、赤霉素响应元件、水杨酸响应元件和生长素响应元件。这些激素响应元件在 VfNAC 基因家族的分布存在很大差异, 如在 VfNAC74 基因启动子区域共鉴定出 20 个与 3 种激素响应相关的元件, 而在 VfNAC22 基因启动子中则没有与激素响应相关的元件。通过对 VfNAC 基因启动子顺式作用元件进行分析, 推测由于 VfNAC 基因启动子顺式作用元件的多样性, 进而影响了 VfNAC 基因的生物学功能。

#### 2.4 VfNAC 基因染色体定位与共线性分析

77 个 VfNAC 基因不均匀分布在蚕豆的 6 条染色体上, 同一亚组的基因在各条染色体上随机分布。其中, 1 号染色体包含 29 个基因 (VfNAC1~VfNAC29), 2 号染色体包含 11 个基因 (VfNAC30~VfNAC40), 3 号染色体包含 9 个基因 (VfNAC41~VfNAC49), 4 号染色体包含 6 个基因 (VfNAC50~VfNAC55), 5 号染色体包含 6 个基因 (VfNAC56~VfNAC61), 6 号染色体包含 15 个基因 (VfNAC62~VfNAC76), 还有 1 个基因 (VfNAC77) 未定位到

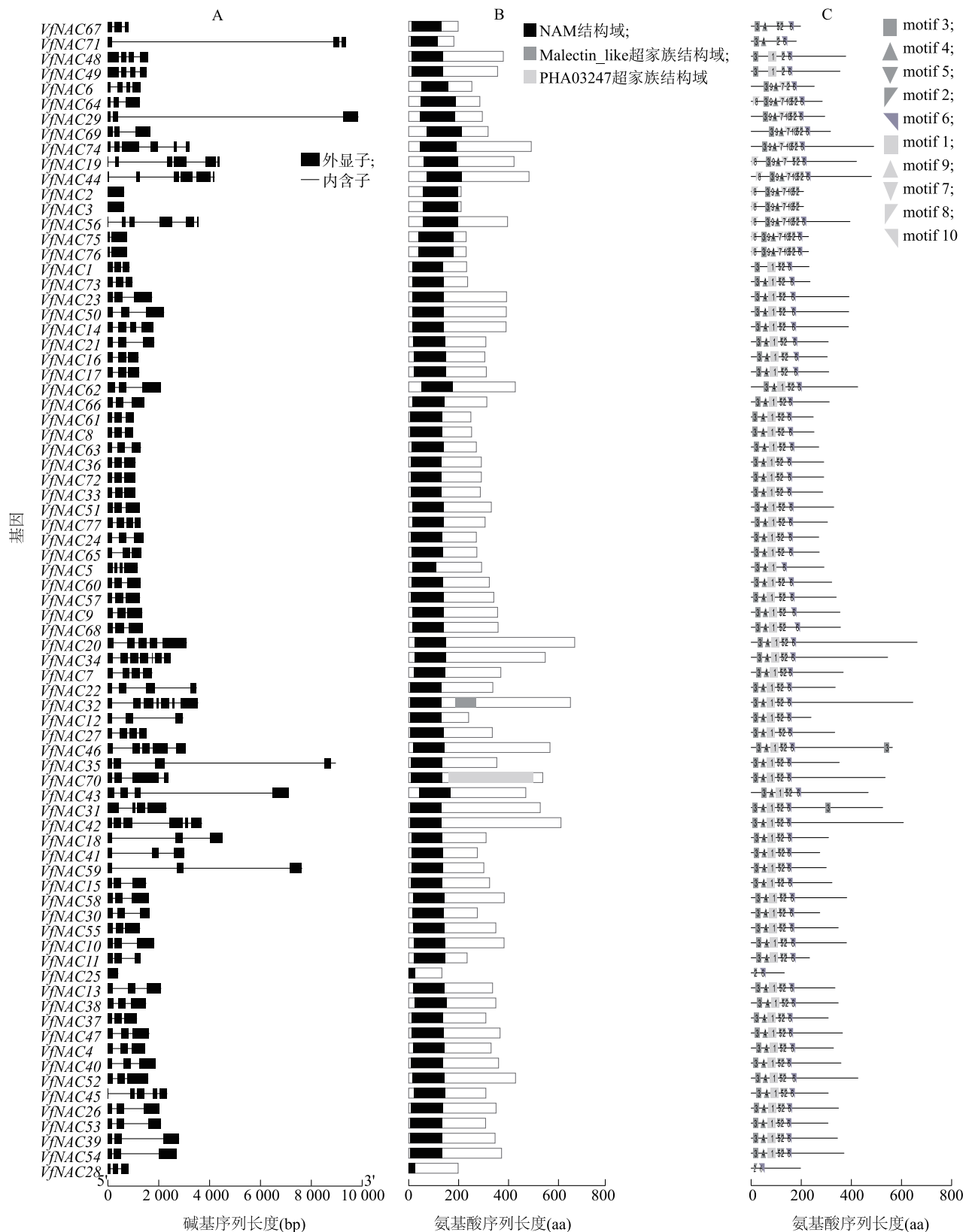
染色体上。

重复事件与植物进化模式相关, 而串联重复和片段重复是基因家族扩展和基因组复杂性的来源。通过 BLASTP 和 MScanX 两个工具对 77 个 VfNAC 基因进行片段重复分析, 确定了 3 个串联重复事件和 21 对片段重复事件 (图 3 和图 4)。所有串联重复事件的基因都属于同一亚家族, 例如属于 ONAC003 亚家族的 VfNAC2 和 VfNAC3、VfNAC75 和 VfNAC76, 属于 ONAC22 亚家族的 VfNAC16 和 VfNAC17。除 3 对基因 (VfNAC2 和 VfNAC3、VfNAC75 和 VfNAC76、VfNAC25 和 VfNAC38) 的  $K_a/K_s$  值为非数字, 其余 21 对重复基因对均为纯化选择下进化 ( $K_a/K_s < 1$ )。

为了解 NAC 基因家族的进化关系, 将蚕豆与拟南芥和蒺藜苜蓿进行共线性分析 (图 5), 同源对数分别为 66 对、100 对, 同源基因较多, 说明这些物种之间存在系统发育关系, 而且蚕豆与蒺藜苜蓿的 NAC 家族基因同源进化关系更为密切。

#### 2.5 VfNAC 基因在链格孢菌胁迫下的表达模式

对转录组数据进行分析, 筛选链格孢菌侵染后蚕豆中差异表达的 NAC 基因, 发现共有 33 个差异表达基因, 各基因表达变化不一致, 其中 75.8% 为上调表达。根据 VfNAC 基因表达模式的聚类结果, 可将 33 个 VfNAC 差异表达基因聚为 3 支, 其中 A 支 18 个差异表达基因在链格孢菌侵染前期就上调表达, B 支的 7 个差异表达基因在链格孢菌侵染前期部分出现上调表达, 到侵染后期 7 个基因全部上调高表达, C 支的 8 个差异表达基因未经链格孢菌侵染时是上调表达, 遭受链格孢菌侵染后大部分出现下调表达, 这说明 VfNAC 差异表达基因不同成员在蚕豆响应链格孢菌侵染过程中扮演不同的调控角色 (图 6)。根据亚家族分类结果发现, ATAF、AtNAC3、NAC1、NAM、NAP、ONAC003、ONAC2、OsNAC7、SENU5、TERN、TIP 等 11 个亚家族中差异表达的 VfNAC 基因数量分别为 3 个、2 个、1 个、4 个、6 个、3 个、6 个、1 个、1 个、3 个、2 个, 其中 ONAC003 亚家族和 OsNAC7 亚家族差异表达基因均为下调表达, ATAF、TIP、ONAC2、NAC1、AtNAC3、SENU5 亚家族差异表达基因均上调表达, NAM、NAP 和 TERN 亚家族基因上调和下调两种表达模式都存在。在链格孢菌侵染后, 基因表达下调显著的基因是 VfNAC6 和 VfNAC63, 表达上调显著的基因是 VfNAC24 和 VfNAC72, 据此推测这些基因对蚕豆响应链格孢菌侵染起重要作用, 可能是潜在的关键抗病候选基因。



A: 蚕豆 VfnAC 转录因子基因的结构; B: 蚕豆 VfnAC 转录因子基因编码蛋白质的结构域; C: 蚕豆 VfnAC 转录因子基因编码蛋白质的保守基序。

图 2 蚕豆 VfnAC 转录因子基因的结构及编码蛋白质的结构域、保守基序

Fig.2 Structure of VfnAC transcription factor genes in *Vicia faba* and the domains and conserved motifs of the encoded proteins

表 3 *VfNAC* 基因启动子区域顺式作用元件的功能分组

Table 3 Functional categorization of *cis*-acting elements in the promoter regions of *VfNAC* genes

顺式作用元件	数量(个)	比例(%)
光响应元件	915	49.67
茉莉酸酯响应元件	184	9.99
脱落酸响应元件	180	9.77
厌氧响应元件	157	8.52
赤霉素响应元件	56	3.04
干旱响应元件	52	2.82
水杨酸响应元件	49	2.66
生长素响应元件	40	2.17
防御和逆境响应元件	38	2.06
低温响应元件	37	2.01
玉米素代谢调节元件	30	1.63
分生组织表达元件	27	1.47
胚乳表达元件	22	1.19
昼夜节律控制元件	21	1.14
类黄酮生物合成基因调控元件	11	0.60
种子特异表达调控元件	11	0.60
细胞周期调节元件	6	0.33
栅栏叶肉细胞的分化元件	4	0.22
创伤响应元件	2	0.11
合计	1 842	100.00

为了进一步探索 *VfNAC* 基因在链格孢菌胁迫下的表达情况,本研究利用 qRT-PCR 对差异表达的 6 个基因进行表达模式分析(图 7)。从图 7 可知,链格孢菌侵染后 6 个 *VfNAC* 基因的表达趋势与转录组结果基本一致,在侵染后表现为不同程度的上调或下调,表明转录组数据可靠。

### 3 讨论

NAC 转录因子基因是植物中最大的基因家族之一,在植物生长发育、逆境响应等方面发挥重要作用<sup>[21-23]</sup>。随着高通量测序技术的发展,越来越多的植物基因组、转录组完成测序工作,许多植物 NAC 基因家族成员已被鉴定出来,然而蚕豆 NAC 转录因子基因尚未进行鉴定和分析。本研究在蚕豆中共鉴定出 77 个 NAC 基因家族成员,数量少于拟南芥的 117 个<sup>[24]</sup>、花生的 132 个<sup>[25]</sup>、水稻的 151 个<sup>[26]</sup>、大豆的 152 个<sup>[27]</sup>、燕麦的 333 个<sup>[28]</sup>、苜蓿的 421 个<sup>[29]</sup>,这可能是不同植物基因组大小及基因复制方式差异造成的。另外,由于蚕豆基因组较大(约 13 Gb),2023 年才完成全基因组测序<sup>[30]</sup>,在分子层面相较于其他植物研究不够深入,基因注释不全面,这可能也是导致蚕豆 NAC 基因家族成员较少的因素之一。

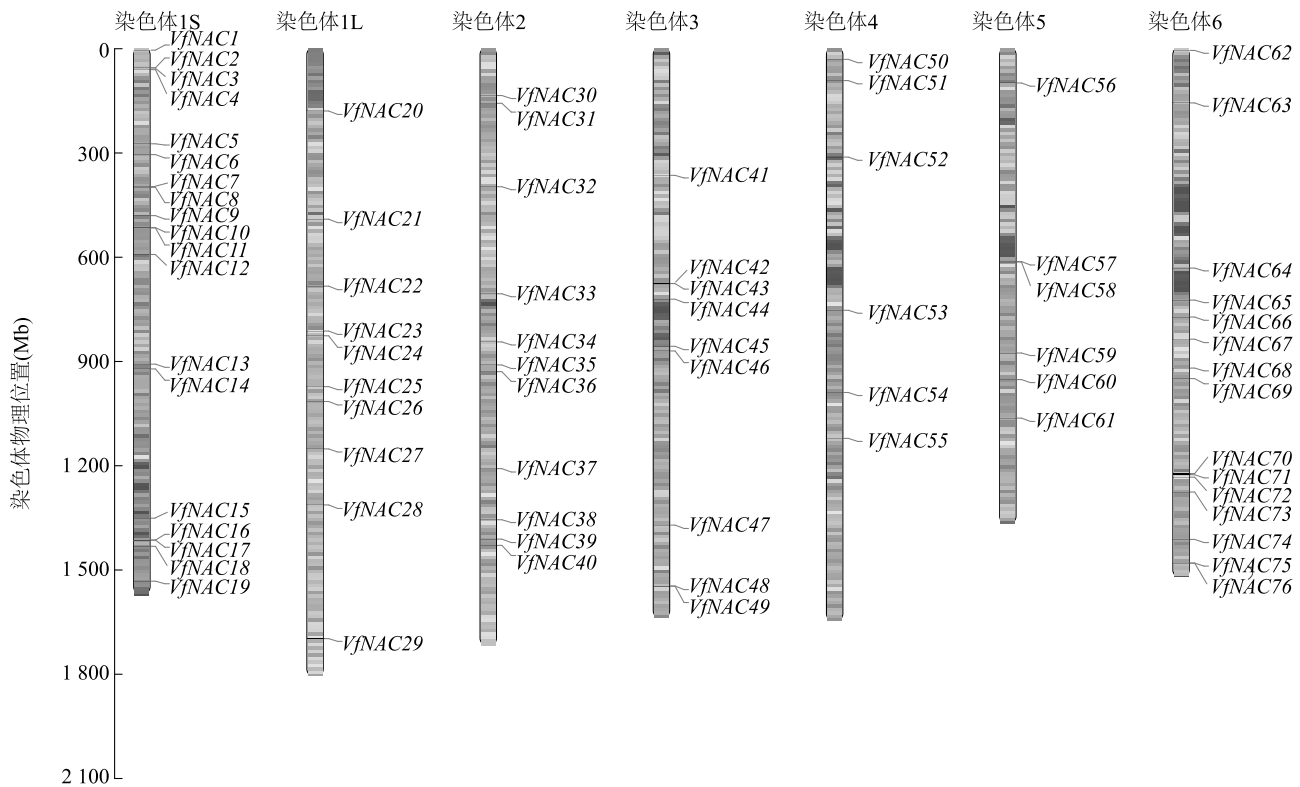


图 3 *VfNAC* 基因的染色体分布

Fig.3 Chromosomal distribution of *VfNAC* genes

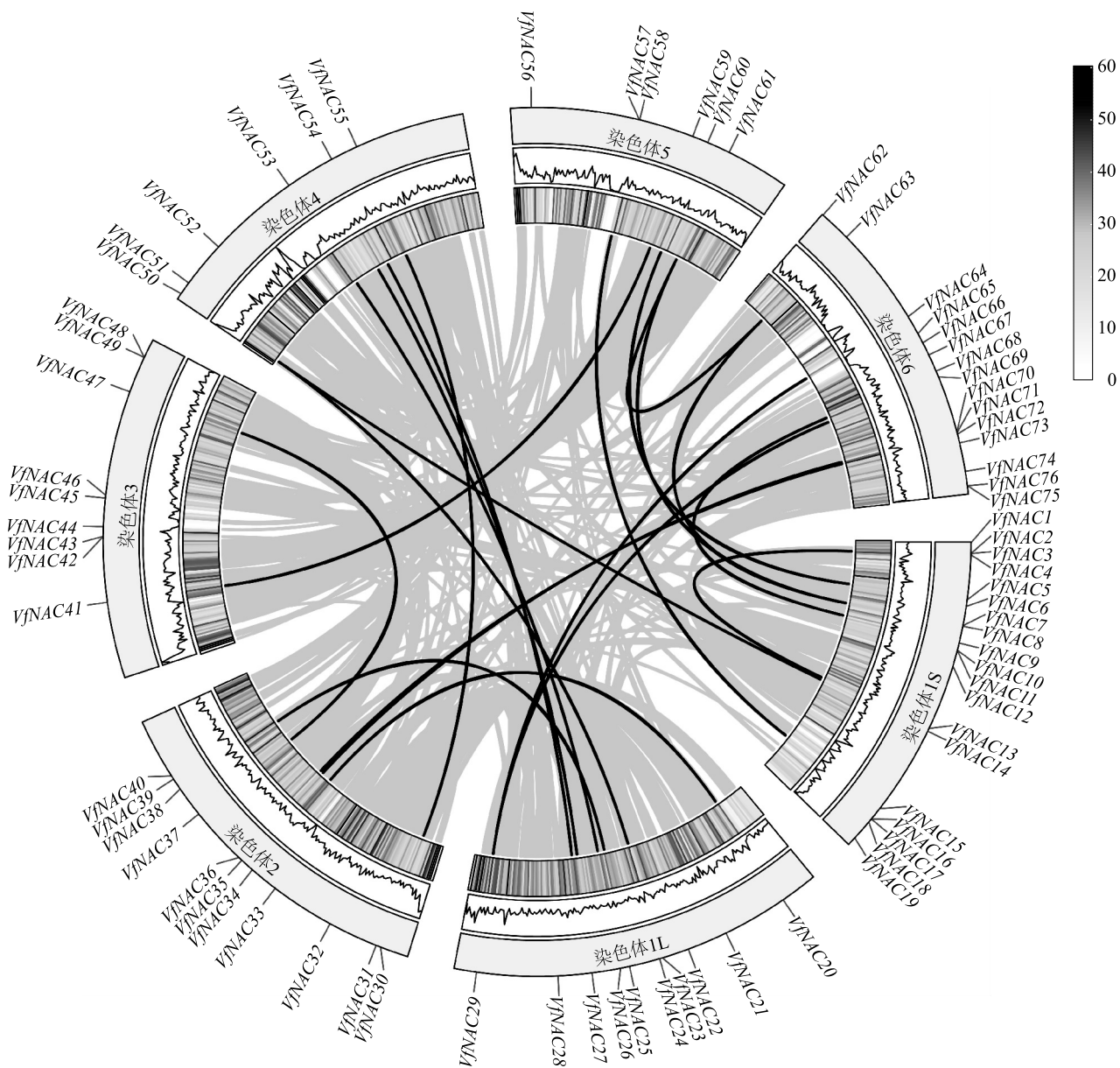


图 4 VfNAC 基因共线性关系示意图

Fig.4 Schematic diagram of the syntenic relationships of VfNAC genes

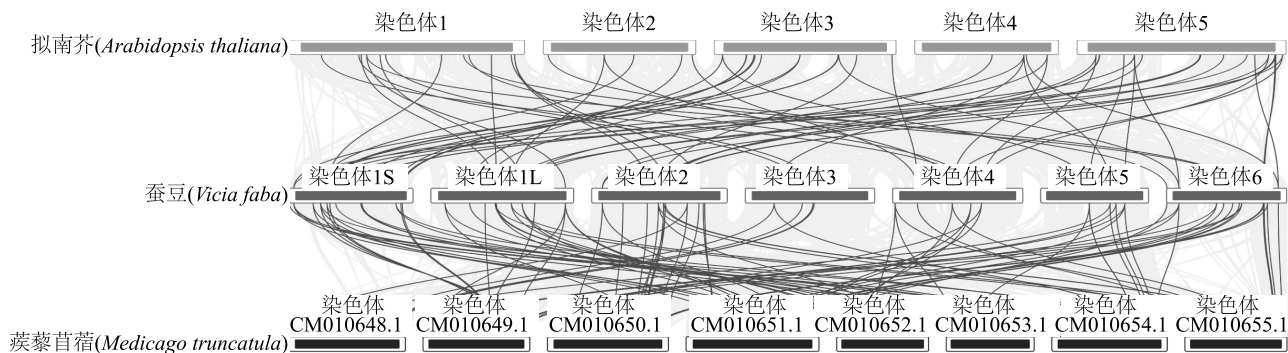
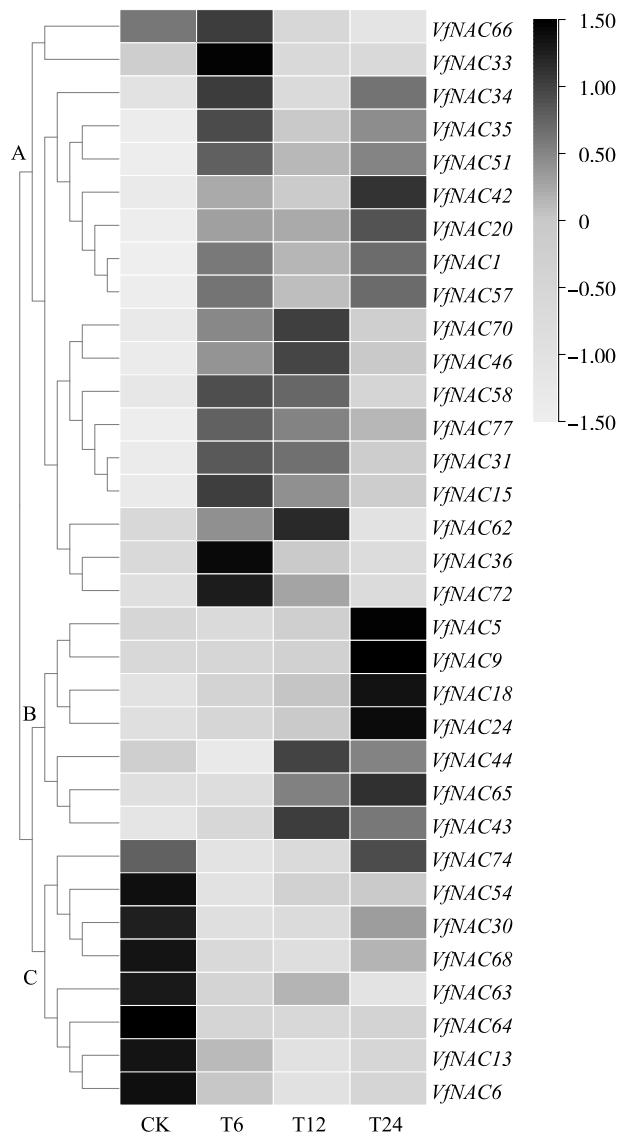


图 5 蚕豆 NAC 基因与拟南芥、蒺藜苜蓿 NAC 基因的共线性关系

Fig.5 Collinearity analysis of NAC genes between *Vicia faba*, *Arabidopsis thaliana*, and *Medicago truncatula*



A: 感染前期上调表达的基因; B: 感染后期上调表达的基因; C: 感染后下调表达的基因。CK: 对照, 未接种链格孢菌; T6: 接种链格孢菌后 6 h; T12: 接种链格孢菌后 12 h; T24: 接种链格孢菌后 24 h。

图 6 蚕豆 NAC 差异表达基因的表达热图

Fig. 6 Expression heatmap of differentially expressed NAC genes in *Vicia faba*

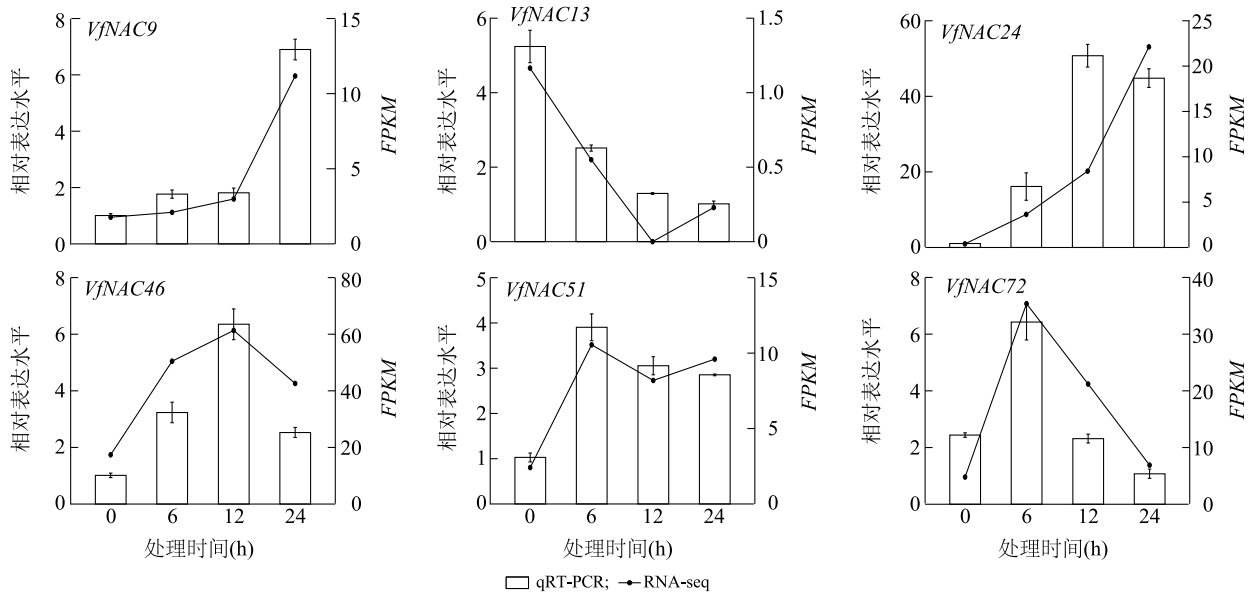
植物激素是介导植物防卫响应病原菌的重要信号分子, 比如茉莉酸主要介导植物对死体营养型病原菌的防御反应, 水杨酸主要介导植物对活体营养型和半活体营养型病原菌的防御反应。本研究结果表明, 大部分蚕豆 NAC 转录因子基因的启动子区域包含多个响应激素诱导的顺式作用元件, 如响应茉莉酸的 as-1 (TGACG)、响应水杨酸的 TCA-element

等。前人研究结果表明, as-1 序列广泛存在于植物防御相关基因的启动子中, 作为结合位点参与调控茉莉酸甲酯 (MeJA) 应答反应<sup>[31]</sup>。本研究中被链格孢菌感染后蚕豆 *VfNAC6* 基因、*VfNAC24* 基因、*VfNAC63* 基因和 *VfNAC72* 基因表达量显著变化, 分析其启动子区域发现, 这 4 个基因均含有响应茉莉酸甲酯或水杨酸诱导的顺势作用元件, 因此, 推测这些基因可能在蚕豆抵御病原菌感染过程中发挥重要作用, 通过受到病原菌感染后表达量剧烈变化增强蚕豆抗病性。

NAC 转录因子在植物防御病原菌感染中具有重要的调控功能, 对链格孢菌的感染也起到抵御作用, 有研究表明, 烟草 *NaNAC29* 基因通过调节防御蛋白 NaDLP1 参与对链格孢菌的防御反应<sup>[32]</sup>, 苹果 NAC 转录因子基因 *MdNAC43*、*MdNAC45*、*MdNAC47*、*MdNAC49* 和 *MdNAC51* 在斑点落叶病病菌感染下表达量显著升高, 推测这 5 个基因可能在苹果抗真菌感染中起调控作用<sup>[33]</sup>。腐烂病病菌感染新疆野苹果后, 与对照相比有 34 个 *MsNAC* 差异表达基因, 其中近 60% *MsNAC* 差异表达基因下调表达<sup>[34]</sup>, 本研究中链格孢菌感染蚕豆后, 差异表达的 *VfNAC* 基因数量与新疆野苹果相似, 但差异表达 *VfNAC* 基因大部分表现为上调表达, 与新疆野苹果中差异表达 *MsNAC* 基因的表达模式不同, 可能是因为病原菌及作物种类不同, NAC 转录因子基因在其互作过程中发挥的作用也有差异。链格孢菌感染蚕豆后并非所有的 *VfNAC* 基因都能被链格孢菌诱导表达, 不同亚家族的 *VfNAC* 基因表达也有差异。例如, *ANAC011*、*ONAC22*、*OsNAC8* 等亚家族未发现差异表达基因, *ATAF*、*ONAC2*、*TIP*、*AtNAC3* 等亚家族所有基因均差异表达, 其他亚家族有部分基因差异表达。

## 4 结论

本研究从蚕豆全基因组中鉴定出 77 个 NAC 转录因子基因家族成员, 初步筛选出 4 个响应链格孢菌的 *VfNAC* 基因, 后续需要进一步验证蚕豆 NAC 转录因子基因家族的生物学功能, 以期为培育抗病品种提供新的基因资源, 同时筛选 NAC 蛋白中互作蛋白及其下游靶标基因, 最终解析 NAC 转录因子在蚕豆抗链格孢菌中的分子调控网络, 为阐明植物在生物胁迫下的调控机制提供新的线索。



FPKM:每千个碱基的外显子模型每百万映射片段的数量。

图7 差异表达基因的RNA-seq和qRT-PCR结果比较

Fig.7 Comparison of RNA-seq and qRT-PCR results of differentially expressed genes

## 参考文献:

- [1] CHEN N, SHAO Q, LU Q N, et al. Research progress on function of NAC transcription factors in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) [J]. *Euphytica*, 2023, 219(1):22.
- [2] YUAN X, WANG H, CAI J T, et al. NAC transcription factors in plant immunity[J]. *Phytopathology Research*, 2019, 1(1):3.
- [3] BIAN Z Y, GAO H H, WANG C Y. NAC transcription factors as positive or negative regulators during ongoing battle between pathogens and our food crops[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 22(1):81.
- [4] DIAO P F, CHEN C, ZHANG Y Z, et al. The role of NAC transcription factor in plant cold response[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2020, 15(9):1785668.
- [5] LIU G S, LI H L, GRIERSON D, et al. NAC transcription factor family regulation of fruit ripening and quality; a review[J]. *Cells*, 2022, 11(3):525.
- [6] YU G L, ZOU J N, WANG J H, et al. A soybean NAC homolog contributes to resistance to *Phytophthora sojae* mediated by dirigent proteins[J]. *The Crop Journal*, 2022, 10(2):332-341.
- [7] PEROCHON A, KAHLA A, VRANIC M, et al. A wheat NAC interacts with an orphan protein and enhances resistance to *Fusarium* head blight disease [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(10):1892-1904.
- [8] ZHONG Q, YU J T, WU Y D, et al. Rice transcription factor OsNAC2 maintains the homeostasis of immune responses to bacterial blight[J]. *Plant Physiology*, 2024, 195(1):785-798.
- [9] 陈娜, 邵勤. 番茄 NAC 转录因子 *SINAP2* 的克隆、表达及功能分析[J]. *核农学报*, 2023, 37(2):251-261.
- [10] LI M, CHEN R, JIANG Q Y, et al. GmNAC06, a NAC domain transcription factor enhances salt stress tolerance in soybean [J]. *Plant Molecular Biology*, 2021, 105(3):333-345.
- [11] 熊楚雯, 郭智滨, 周强华, 等. 大豆转录因子 NAC1 耐低磷胁迫的功能研究[J]. *中国农业科学*, 2024, 57(3):442-453.
- [12] 王世泽, 刘杰, 杨志晓, 等. 过表达和敲除 *NtabNAC087* 基因对烟草响应干旱胁迫的影响[J]. *核农学报*, 2023, 37(7):1307-1314.
- [13] ZHOU R, HYLDGAARD B, YU X Q, et al. Phenotyping of faba beans (*Vicia faba* L.) under cold and heat stresses using chlorophyll fluorescence[J]. *Euphytica*, 2018, 214(4):68.
- [14] 马连杰, 张慧, 冯牧野, 等. 重庆地区蚕豆叶部链格孢菌的鉴定及其生物学特性研究[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(26):126-129.
- [15] RAHMAN M Z, HONDA Y, ARASE S. Red-light-induced resistance in broad bean (*Vicia faba* L.) to leaf spot disease caused by *Alternaria tenuissima* [J]. *Journal of Phytopathology*, 2003, 151(2):86-91.
- [16] MISTRY J, CHUGURANSKY S, WILLIAMS L, et al. Pfam: the protein families database in 2021 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(1):412-419.
- [17] CHEN C J, WU Y, LI J W, et al. TBtools-II: a 'one for all, all for one' bioinformatics platform for biological big-data mining [J]. *Molecular Plant*, 2023, 16(11):1733-1742.
- [18] YAN H F, MA G H, DA SILVA J A T, et al. Genome-wide identification and analysis of NAC transcription factor family in two diploid wild relatives of cultivated sweet potato uncovers potential

- NAC* genes related to drought tolerance[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12:744220.
- [19] LI W H, ZENG Y L, YIN F L, et al. Genome-wide identification and comprehensive analysis of the NAC transcription factor family in sunflower during salt and drought stress[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1):19865.
- [20] 徐可丽,周美君,郭怡婷,等. 玉米 ECT 家族成员的全基因组分析及非生物胁迫下的响应表达[J]. *核农学报*, 2024, 38(6): 1035-1047.
- [21] 钱超楠,徐孙然,李梦茹,等. 早柳 NAC 基因家族的全基因组鉴定及其在淹水和盐胁迫下的表达分析[J]. *南方农业学报*, 2024, 55(10):3056-3070.
- [22] 陈 彧,邢文婷,李雨欣,等. 铁皮石斛 *DcNAC1* 基因克隆、表达及转录自激活活性分析[J]. *南方农业学报*, 2023, 54(6): 1612-1621.
- [23] 董舒超,凌嘉怡,赵丽萍,等. 转录因子调控番茄抗旱性研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2023, 51(9):9-16.
- [24] KIM Y S, KIM S G, PARK J E, et al. A membrane-bound NAC transcription factor regulates cell division in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(11):3132-3144.
- [25] LI P X, PENG Z Y, XU P L, et al. Genome-wide identification of NAC transcription factors and their functional prediction of abiotic stress response in peanut[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 630292.
- [26] 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):30-44.
- [27] 王 洋,柏 锡. 大豆 NAC 基因家族生物信息学分析[J]. *大豆科学*, 2014, 33(3):325-333.
- [28] XU Y H, CHENG J L, HU H B, et al. Genome-wide identification of NAC family genes in oat and functional characterization of *AsNAC109* in abiotic stress tolerance[J]. *Plants*, 2024, 13(7): 1017.
- [29] HE F, ZHANG L X, ZHAO G Q, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the NAC gene family in alfalfa revealed its potential roles in response to multiple abiotic stresses [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(17): 10015.
- [30] JAYAKODI M, GOLICZ A A, KREPLAK J, et al. The giant diploid faba genome unlocks variation in a global protein crop[J]. *Nature*, 2023, 615:652-659.
- [31] ROUSTER J, LEAH R, MUNDY J, et al. Identification of a methyl jasmonate-responsive region in the promoter of a lipoxygenase 1 gene expressed in barley grain[J]. *The Plant Journal:For Cell and Molecular Biology*, 1997, 11(3):513-523.
- [32] MA L, LI R P, MA L Y, et al. Involvement of NAC transcription factor *NaNAC29* in *Alternaria alternata* resistance and leaf senescence in *Nicotiana attenuata*[J]. *Plant Diversity*, 2020, 43(6): 502-509.
- [33] 李慧峰,董庆龙,赵 强,等. 13 个苹果 NAC 转录因子基因的克隆与表达分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2019, 20(4):1041-1051.
- [34] 周 童,李小双,刘晓洁,等. 新疆野苹果 NAC 基因分析及抗腐烂病基因筛选[J]. *果树学报*, 2020, 37(8):1111-1121.

(责任编辑:黄克玲)