

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2020.20278

赵才美, 黄兴奇, 殷富有, 李定琴, 陈越, 陈玲, 程在全. 水稻 NAC 转录因子家族的研究进展[J]. 植物科学学报, 2020, 38(2): 278-287  
 Zhao CM, Huang XQ, Yin FY, Li DQ, Chen Y, Chen L, Cheng ZQ. Research progress on NAC transcription factor family in *Oryza sativa* L.[J]. *Plant Science Journal*, 2020, 38(2): 278-287

## 水稻 NAC 转录因子家族的研究进展

赵才美<sup>1,2</sup>, 黄兴奇<sup>1</sup>, 殷富有<sup>1</sup>, 李定琴<sup>3</sup>, 陈越<sup>1</sup>, 陈玲<sup>1</sup>, 程在全<sup>1\*</sup>

(1. 云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 昆明 650205; 2. 云南大学生命科学学院, 昆明 650091; 3. 西南医科大学基础医学院, 四川泸州 646000)

**摘要:** NAC 转录因子家族是一类重要的转录调控因子, 在植物中普遍存在。在水稻 (*Oryza sativa* L.) 生命历程中, NAC 家族参与其细胞生长、组织发育、器官衰老等过程, 且在应对外界环境刺激的响应过程中起重要作用。本研究介绍了水稻 NAC 转录因子家族的结构特点, 并综述了水稻 NAC 转录因子家族参与调控植物生长发育的过程, 以及在低温、高盐、病原菌等逆境胁迫中的作用与功能, 并对水稻 NAC 家族今后的研究方向进行了展望。

**关键词:** 水稻; NAC 转录因子; 抗逆性; 基因表达

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2020)02-0278-10

## Research progress on NAC transcription factor family in *Oryza sativa* L.

Zhao Cai-Mei<sup>1,2</sup>, Huang Xing-Qi<sup>1</sup>, Yin Fu-You<sup>1</sup>, Li Ding-Qin<sup>3</sup>,  
 Chen Yue<sup>1</sup>, Chen Ling<sup>1</sup>, Cheng Zai-Quan<sup>1\*</sup>

(1. *Biotechnology & Genetic Germplasm Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;*  
 2. *College of Life Science, Yunnan University, Kunming 650091, China;* 3. *Basic Medical College, Southwestern Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China*)

**Abstract:** The NAC transcription factor family is an important class of transcriptional regulatory factors and is found ubiquitously in plants. In rice (*Oryza sativa* L.), the NAC gene family is involved in cell growth, tissue development, organ aging, and adventitious stress responses, and plays an important role in responding to external environmental stimuli. In this paper, we introduce the structural characteristics of the *O. sativa* NAC transcription factor family and its involvement in regulating plant growth and development. We also discuss the involvement of NAC genes in defensive responses to cold, salt, and pathogenic bacterial stress. Future research directions are analyzed and considered. Overall, this paper provides theoretical guidance and reference for relevant future study.

**Key words:** *Oryza sativa*; NAC transcription factor; Stress resistance; Gene expression

植物在长期的生命演化过程中, 时常遇到环境的刺激和胁迫, 导致了植物细胞损坏、生长缓慢、产量滞后等严重问题。植物为了适应和抵御不利环

境的胁迫, 自身可形成一套防御措施。如植物中含有许多转录因子家族, 其主要功能是识别并结合目标基因启动子中的核苷酸序列, 激活或阻遏目标基

收稿日期: 2019-08-08, 退修日期: 2019-10-25。

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0100101-10-3); 国家重点育种专项(2017YFD0100202); 云南省科技人才和平台计划项目(2019HB034)。

This work was supported by grants from the National Important Researching and Planning Project of China (2016YFD0100101-10-3), National Key Breeding Special of China (2017YFD0100202), and Yunnan Technology Talents and Platform Project (2019HB034)。

作者简介: 赵才美(1987-), 女, 博士研究生, 研究方向为水稻分子遗传育种(E-mail: zhaocaimei1314@126.com)。

\* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: czquan-99@163.com)。

因的表达, 调控植物生长过程以及逆境胁迫防御反应。转录因子根据 DNA 保守结构域的不同, 可分为 6 大类, 如 NAC (NAM、ATAF1/2、CUC2)、bZIP、AP2/EREBP、DREB 等。其中, NAC 家族是近几年研究较多的一类, 已从水稻 (*Oryza sativa* L.)、高粱 (*Sorghum bicolor* L. Moench)、月季 (*Rosa chinensis* Jacq.)、甘蔗 (*Saccharum officinarum* L.)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)、桉树 (*Eucalyptus smithii* R. Baker)、沙冬青 (*Ammopiptathus mongolicus* (Maxim. ex Kom.) Cheng f.) 和苹果 (*Malus domestica* Borkh.) 等植物中发现该家族的成员<sup>[1, 2]</sup>, 且发现一些成员参与调控了植物整个生命活动过程, 尤其是在应对不利环境所作出的抗逆反应<sup>[3]</sup>。水稻作为主要的粮食作物, 在自然生长过程中, 常遭受外界环境因素的胁迫, 极大地影响水稻的生长和产量。同时, 伴随着人口增多、环境不断恶化, 加强水稻抗逆性的研究, 充分挖掘和利用抗逆新品种, 对促进水稻整体产业的发展具有一定的现实意义。本文对水稻 NAC 转录因子家族的结构特点、作用与功能等方面的研究进行了综述, 并对未来的研究方向进行了展望, 以期对植物 NAC 家族在遭受非生物(干旱、高盐等)或生物(病原菌、害虫等)胁迫的研究方面提供参考。

## 1 NAC 转录因子家族的结构特点

NAC 转录因子家族是根据 NAM、ATAF、CUC 基因的首字母命名, 在这 3 个基因 N 端均能编码相同的保守序列。NAC 家族的蛋白序列通常由约 400 个氨基酸组成, 具有典型和非典型两种结构<sup>[4]</sup>。通常典型的结构域由 N 端和 C 端组成, 并各自发挥其功能(图 1: A(a))。其中, NAC 蛋白的 N 端保守性强, 为 150 ~ 160 个氨基酸组成的 NAC 短肽, 包含 5 个亚结构域(A~E)。在不同的植物中, N 端的 A、C、D 结构域具有很高的保守性, 涉及二聚体和 DNA 结合等过程, 相对而言, N 端的 B、E 结构域保守性稍弱, 涉及蛋白不同的功能。而该蛋白的 C 端保守性弱, 具有高变异的转录调控(transcription regulatory, TR)区, 该区域存在高度变异, 在不同条件下具有不同的转录特性, 从而激活或抑制不同的转录过程; 尽管 C 端转录区保守性弱, 但仍然存在一些简单氨基酸重

复保守基序, 如: Ser、Pro、Glu、Thr 等, 这些基序分布于不同的亚组中, 在同一亚组中的 NAC 转录因子结构上更接近, 而在不同亚组的 NAC 转录因子存在一定差异<sup>[5]</sup>。非典型的 NAC 转录因子是由单个、两个串联或顺序颠倒的结构域组成(图 1: A(b ~ f)), 如: 只含有单个的 NAC 结构域, 两个串联重复的 NAC 结构域或 NAC 结构域在 C 端, 而 TR 结构域在 N 端等<sup>[6]</sup>。

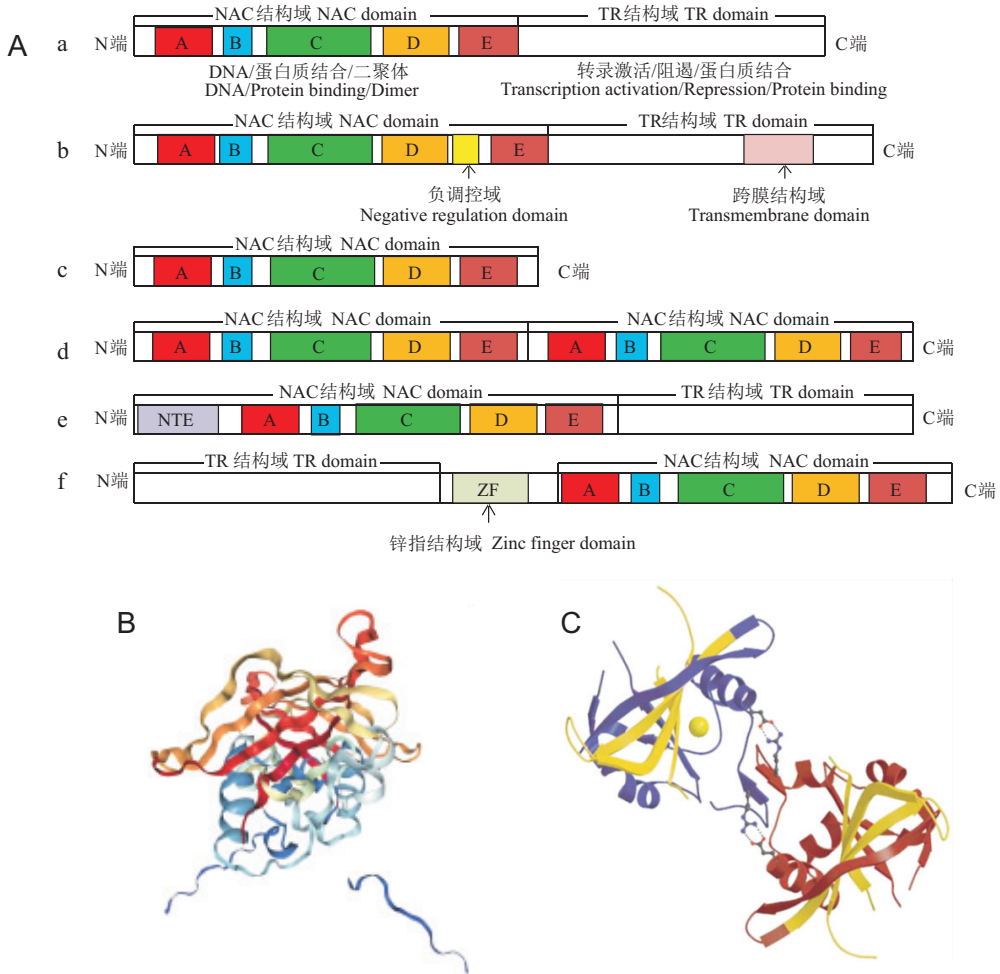
目前, 关于植物 NAC 蛋白质的三级结构的研究, 已采用 X-ray 衍射法获得拟南芥 ANAC019 和 水稻 OsNAC1 保守结构域的三维空间构象<sup>[7]</sup>。ANAC019 蛋白结构空间构象与传统的经典(螺旋-转角-螺旋)结构完全不同, 他是由多个  $\alpha$ -螺旋围绕着一个弯曲的  $\beta$  折叠形成新的折叠结构(图 1: B), 可通过 Arg 和 Glu 间的氢键或盐桥形成保守的功能蛋白二聚体。另外, 许多 NAC 蛋白具有与 ANAC019 类似的二聚体结合位点, 且多数 NAC 蛋白以同源二聚体的形式与 DNA 相结合, 从而发挥其调控作用(图 1: C)。水稻 NAC1 蛋白的三维结构与 ANAC019 蛋白具有较高的相似性, 不同之处在于  $\beta 1 \sim \beta 2$  和  $\beta 6 \sim \beta 7$  之间所形成的环状结构有所不同<sup>[4, 8]</sup>。

## 2 NAC 家族的表达调控

NAC 家族的表达调控受到自身细胞生长发育和内外各种环境的影响和调节, 主要体现在转录水平和蛋白质翻译水平, 如 miRNA 剪接、蛋白质修饰以及蛋白间的互作等。

### 2.1 转录水平的调控

miRNA 是一类非编码 RNA, 其作用是调控靶基因的表达<sup>[9]</sup>。目前, 已发现有 10 多个 miRNA 基因家族, 其中 miR164 的研究比较成熟。miR164 可以调控 3 个拟南芥 NAC 转录因子的表达<sup>[10]</sup>, 分别为 CUC1、CUC2 和 NAC1。一般情况下, miR164 能够与 NAC1 进行配对, 从而实现 NAC1 的降解, 但是当 NAC1 序列发生改变后, miR164 则无法降解 NAC1。对 miR164 缺失突变体的研究发现, miR164 的表达量下降, 而 NAC1 表达量上升, 可以促进植物侧根数量的增多; 而在野生型植株中, 过表达 miR164 后, NAC1 表达量明显降低, 则降低了侧根的数量<sup>[11]</sup>。此外, miR164 也调控拟南芥 NAC4 转录因子的表达, 在



A: NAC 蛋白的结构特征; B: ANAC019 蛋白的三维单体结构; C: ANAC019 同源二聚体结构。  
A: Structure type of NAC protein; B: Three-dimensional monomer structure of ANAC019 protein; C: Homologous dimer structure of ANAC019.

图 1 NAC 转录家族的结构示意图 (改自 Puranik 等<sup>[4]</sup>、Jensen 等<sup>[7]</sup>和 Ernst 等<sup>[8]</sup>)

Fig. 1 Structural diagram of NAC transcription family  
(modified from Puranik *et al.*<sup>[4]</sup>, Jensen *et al.*<sup>[7]</sup>, and Ernst *et al.*<sup>[8]</sup>)

病原菌诱导下, miR164 能加速细胞死亡<sup>[12]</sup>。另外,在水稻中有 5 个 NAC 转录因子,均受到 miR164 的调控<sup>[13]</sup>,其中有 4 个可以负调控水稻的耐旱性<sup>[14]</sup>。Xu 等<sup>[15]</sup>的研究分析了水稻 microRNA 的全基因组,发现水稻 NAC 转录因子表达受 microRNA 调控,并且 microRNA 还参与了水稻的生长、叶片衰老等生长发育过程。

## 2.2 翻译水平的调控

NAC 蛋白调控受到不同程度的修饰或调节,如泛素化、磷酸化修饰以及蛋白互作等。其中,泛素化是蛋白质翻译后修饰的一类重要调控方式,其介导的途径对维持细胞内蛋白的水平与功能起到重要作用。拟南芥 SJNAT5 属于泛素化修饰的一种,

具有 E3 连接酶活性,能加速分解细胞内的 NAC1 蛋白,降低生长素信号<sup>[16]</sup>。另外,对于一些跨膜结构的 NAC 蛋白,只有经磷酸化修饰后,转移进入细胞核中才能发挥作用。在 ATAF1 蛋白自身降解的过程中,需要 SnRK1 激酶对其进行磷酸化修饰后,才能促进 ATAF1 蛋白的快速降解<sup>[17]</sup>。水稻 OsNAC4 蛋白受病原菌诱导,经磷酸化修饰后,转移 OsNAC4 蛋白到细胞核内,可引起超敏反应<sup>[18]</sup>。

## 3 水稻 NAC 家族的分类和定位

在模式植物拟南芥和水稻中,NAC 转录因子家族的研究较多,其分类方式比较复杂。其中,最

早在水稻中进行 NAC 转录因子家族的分类(图 2), 将其分为 3 个亚类: OsNAC3、ATAF 和 NAM, 后续的研究发现 3 个亚类均为 I 类<sup>[19]</sup>。Ooka<sup>[20]</sup> 的研究对水稻和拟南芥的 cDNA 文库进行了同源性分析, 根据 NAC 结构域的特征将他们分为 I 和 II 两大组, 又进一步对这两组分别细分为 14 个和 4 个亚组。另外, Fang 等<sup>[21]</sup> 利用系统发育树分析的方法, 对水稻 140 个 OsNAC 或类似 OsNAC 进行比较分析, 根据 NAC 家族编码氨基酸序列的不同, 将其分为 I ~ V 类, 他们对应的 OsNAC 基因数目分别为 54、54、14、14 和 2 个。进一步分析发现, 多数 OsNAC 基因(如 I ~ V 类)涉及了植物组织发育、激素途径、胁迫应答等过程, 另一部分 OsNAC 基因(IV 类)的功能则尚未见报道。

Nuruzzaman 等<sup>[22]</sup> 的研究对水稻 NAC 家族进行了全基因组测序分析, 根据氨基酸保守结构域的不同, 将水稻 OsNAC 转录因子家族分为 A 和 B 两大族, 共有 151 个 OsNAC<sup>[22]</sup>。其中, A 族细分为 7 个亚族, 共 65 个 NAC 基因, 包括: 8 个 ONAC1、16 个 ONAC2、17 个 ONAC3、14 个 ONAC4、3 个 ONAC5、2 个 ONAC6 和 5 个 ONAC7。B 族细分为 9 个亚族, 共 86 个 NAC 基因, 包括: 6 个 NAC1、17 个 NAM/CUC3、14 个 SNAC、5 个 NAC22、13 个 ANAC34、2 个 NEO、14 个 SND、1 个 OMNAC 和 14 个 TIP 基因。对水稻 151 个 NAC 家族进行基因定位, 发现 135 个 NAC 基因在水稻第 12 条染色体上的长、短臂和着丝粒附近等位置分布, 其中, 15 个在 1 号染色体上; 13 个分别在 2、7、11 号染色体上; 17 个在 3 号染色体上; 11 个分别在 8、10、12 号染色体上; 少于 10 个分别在 4、5、6、9 号染色体上<sup>[23]</sup>。

## 4 水稻 NAC 家族的功能研究

NAC 转录因子家族种类繁多, 涉及了植物的生长发育、环境胁迫响应、代谢途径以及激素信号传导途径等过程(图 3), 是一种对植物体内生命活动起到调控作用的重要转录因子。当植物处于机械伤害、生物胁迫或非生物胁迫条件下时, NAC 转录因子充分发挥其生物学功能, 调控这些不利条件所对应的胁迫有关基因的表达, 从而增强植物适应和应对各种不利环境胁迫的能力<sup>[25]</sup>。

### 4.1 水稻 NAC 家族在植物生长过程中的功能

多数 NAC 转录因子家族参与了植物的细胞分裂、次生壁加厚、衰老等过程, 同时也通过介导一些激素代谢途径来调节其生长过程。在水稻次生生长过程中赤霉素(gibberellic acid, GA)起到一定作用。研究发现一个 GA 信号级联, 调控了水稻次生壁纤维素的合成。在水稻次生长过程中, 发现两个关键的调节剂, 分别是 NAC29/31 和 MYB61, 其作用是调控纤维素合成酶基因( cellulose synthase, CESA)的表达。另外, GA 信号传导的关键阻遏物是 SLENDER RICE1(SLR1), 他与 NAC 可直接相互作用, 形成 SLR1-NAC29/31 阻断 NAC-MYB-CESA 信号。因此, GA 信号的产生能破解 SLR1 和 NAC 之间的相互作用, 从而促使纤维素的合成。说明 NAC 转录因子可通过选择性剪接方法, 调节木材形成期间纤维细胞壁增厚等过程<sup>[26]</sup>。另外, OsNAC2 是一个负调控的 NAC 转录因子, 通过调控 GA 的合成, 从而影响植株的株高和开花时间<sup>[27]</sup>。新的研究发现, OsNAC2 可直接激活叶绿素降解基因 OsSGR 和 OsNYC3, 降低叶绿素水平, 增加脱落酸(ABA)含量, 加速叶片的

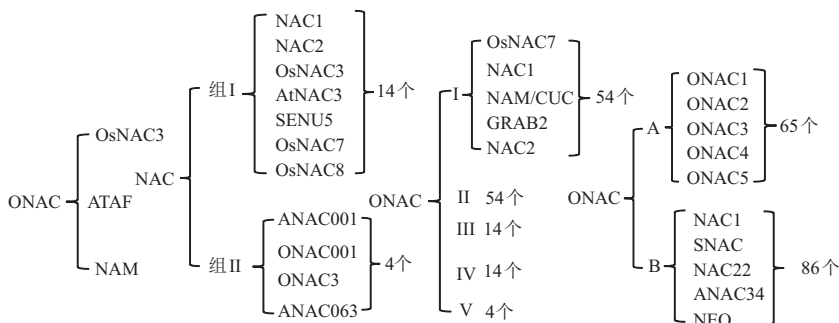


图 2 水稻 NAC 转录因子的分类 (参考孙利军<sup>[24]</sup>)

Fig. 2 Classification of rice NAC transcription factors (referenced from Sun<sup>[24]</sup>)

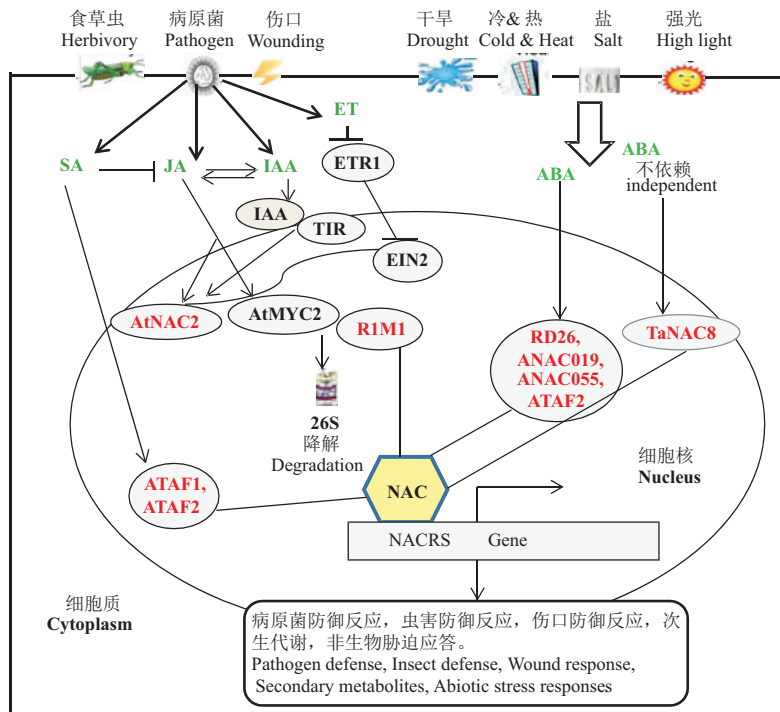


图 3 NAC 基因与逆境胁迫的互作(改自 Wang 等<sup>[25]</sup>)

Fig. 3 Correlation between NAC and adversity stress (modified from Wang *et al.*<sup>[25]</sup>)

衰老<sup>[28, 29]</sup>。类似地, *OsNAP* 转录因子受茉莉酸 (JA) 诱导表达, 参与调控植株的衰老过程, 过表达 *OsNAP* 的转基因植株在籽粒灌浆期加速叶片衰老, 增加与 JA 合成相关基因的含量, 且在苗期对茉莉酸甲酯 (MeJA) 具有较强的耐受性; 而在 *OsNAP* 突变体植株中, 叶片衰老缓慢, JA 含量降低, 其降解基因 *AOS2*、*AOC1* 和 *OPR7* 表达水平下降<sup>[30]</sup>。*OsY37* (*ONAC011*, *Os06g0675600*) 基因也参与调控水稻叶片的衰老过程<sup>[31]</sup>。*OsSND2* 是 *AtSND2* 的同源基因, 位于细胞核内, 与 *OsMYB61* 启动子区直接结合, 激活转录活性, 过表达 *OsSND2* 转基因植株表现为叶片卷曲, 纤维素含量升高, 与植物次生生长相关基因上调表达。利用 CRISPR/Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats/cas9) 方法敲除该基因后, 叶片卷曲减弱, 植物次生生长相关基因出现下调表达。*OsSND2* 调控水稻中纤维素的合成, 可为植物的生物产量提高提供一种策略<sup>[32]</sup>。

#### 4.2 水稻 NAC 家族在非生物胁迫应答中的功能

当水稻受到外界非生物因素刺激时, 机体能感知这些信号, 形成一套信号转导途径, 传递给转录因子识别下游基因的目标序列, 激活靶基因的表达, 消除或减少逆境胁迫所造成的危害。通过采用多种现代生物学技术, 如 RNAi 干扰技术、转基因技术和 T-DNA 插入突变技术等, 已证实水稻一些 NAC 基因在非生物胁迫应答中具有一些功能。

达, 消除或减少逆境胁迫所造成的危害。通过采用多种现代生物学技术, 如 RNAi 干扰技术、转基因技术和 T-DNA 插入突变技术等, 已证实水稻一些 NAC 基因在非生物胁迫应答中具有一些功能。

(1) 单一抗逆性: 耐盐/耐旱。目前, 发现提高水稻单一抗逆性的 NAC 基因相对较少, 主要与耐盐或耐旱相关。在盐胁迫下, 水稻 *ONAC063* 基因转化拟南芥, 可提高过表达植株的耐盐性。基因表达谱分析结果表明, 过表达 *ONAC063* 基因后, 与盐胁迫相关基因上调表达, 如淀粉酶基因 *AMY1*, 推测耐盐性的增强与盐胁迫上调表达基因相关<sup>[33]</sup>。水稻 *OsNAC106* 基因是一个负调控的 NAC 转录因子, 与正常植株相比, *osnac106* 缺失突变体受盐害胁迫时, 盐害胁迫关键基因的表达量增加, 增强了突变植株的耐盐性<sup>[34]</sup>。水稻 *OsNAC41* 受盐胁迫的诱导表达, 表达部位主要在叶片的细胞核中。使用 CRISPR/Cas9 的方法获得水稻 *osnac041* 突变体, 与野生型相比, 具有较高的株高和较强盐胁迫敏感性。基因功能注释结果发现, 丝裂原活化蛋白激酶、过氧化物酶体、光合作用、植物激素、真核型 ABC 转运蛋白等差异表达基因, 均与胁迫信号传导途径相关<sup>[35]</sup>。除了单一

耐盐性的基因外,还有一些基因表现为单一耐旱性。水稻 *SNAC3* 基因处于干旱条件时,过表达该基因可提高植株的抗旱能力。进一步研究发现,在 *SNAC3* 转基因植株中,上调表达活性氧(ROS)清除有关基因,如 *OsRbohF*(NADPH oxidases F)、*OsAPX8*(ascorbate peroxidase 8)、*OsCATA*(catalase A)等,可降低植株内  $H_2O_2$  和丙二醛(MDA)的含量。说明 *SNAC3* 可以靶向 ROS 相关酶基因,调节 ROS 稳态,提高水稻的胁迫耐受性<sup>[36]</sup>。另外,水稻 *OsNAC52* 基因也表现出抗旱性,对其转化拟南芥,发现过表达 *OsNAC52* 植株中,叶片的蒸腾作用下降,抗旱能力升高<sup>[37]</sup>。

**(2) 双重抗逆性:耐旱+耐盐。**多数水稻 NAC 基因受非生物胁迫诱导,其中一部分 NAC 基因可同时增强植物的抗旱和耐盐性。研究发现,*SNAC1* 基因受高盐、干旱等不利因素胁迫时,其表达量升高<sup>[38]</sup>,将其构建在含有组成型启动子 *CaMV 35S* 的载体上,并转化水稻‘日本晴’(‘Nipponbare’),结果发现过表达植株抗旱能力升高。基因表达谱分析结果显示,上调表达的基因至少有 80 个,所编码的蛋白与活性氧平衡、气孔关闭、渗透调节等有关。*SNAC1* 在棉花(*Gossypium hirsutum* L.)、小麦(*Triticum aestivum* L.)等作物中也表现出类似的现象,调节逆境相关基因的表达量,提高植株抗逆性<sup>[39]</sup>。研究发现,*OsNAC9* 与 *SNAC1* 为同一个基因,具有相似的生物学功能<sup>[40]</sup>。新的研究结果显示,*SNAC1* 的下游基因 *OsSRO1* 和 *OsPP18* 也参与水稻逆境胁迫过程<sup>[41, 42]</sup>。水稻 *ONAC45* 基因受到干旱、高盐胁迫时,过表达该基因的植株存活率高于野生型,进一步研究发现,两个胁迫相关基因(*OsLEA3-1a* 和 *OsPM1*)均上调表达,增强了转基因水稻的抗逆性<sup>[43]</sup>。另外,对 *OsNAC10* 基因转化水稻,发现过表达植株的根部表皮、皮层和中柱细胞明显增大,吸水能力加强,增强植株耐旱、耐盐性。同时发现在干旱胁迫时,转基因水稻的产量高于对照组。说明根系的增粗,能提高植物的抗逆性和产量,对抗逆品种的选育、改良和育种等具有重要意义<sup>[44]</sup>。过表达水稻 *OsNAC022* 基因后,发现转基因植株中可溶性糖和脯氨酸(Pro)的含量升高,失水速率、蒸腾速率下降,抗旱、耐盐性增强<sup>[45]</sup>。

**(3) 综合抗逆性:耐旱+耐盐+耐冷。**目前已从

旱稻‘IRA109Z’中获得一个水稻 *SNAC2* 基因,该基因抗多种非生物胁迫,过表达 *SNAC2* 能提高水稻对干旱、冷害、高盐的抗性,与胁迫相关的基因均上调表达。水稻 *SNAC2* 调控表达的基因不同于其他 NAC 基因,表明 *SNAC2* 基因可能激活不同逆境胁迫基因的转录表达,从而实现水稻对多种逆境胁迫的抵抗能力<sup>[46]</sup>。水稻 *OsNAC6* 基因也受多种非生物因素的胁迫,过表达 *OsNAC6* 后,基因表达谱分析结果显示,与多种胁迫相关基因的表达显著上调,增强了植株的耐高盐、抗干旱、耐寒冷性<sup>[47]</sup>。值得注意的是,在幼苗生长期 *OsNAC6* 能通过对染色体修饰来控制根系的生长,表明 *OsNAC6* 可能通过根系结构的改变来介导其抗旱性<sup>[48]</sup>。新的研究表明,水稻 *OsNAC6* 根特异启动子 *RCc3::OsNAC6* 过表达,能够改变根的数量和结构以及烟草胺的合成,增强植物的抗旱性<sup>[49]</sup>。同样地,过表达水稻 *OsNAC5* 基因也提高植株抗旱、耐盐、耐冷能力,且表型不受影响。电泳迁移结果显示,*OsNAC5* 和 *OsNAC6* 均能与 *OsLEA3* 启动子结合,上调表达胁迫相关基因,增强植株抗胁迫能力<sup>[50]</sup>。水稻 *OsNAP* 基因在逆境胁迫应答中起到一定作用,当受到干旱、盐害、低温、激素等胁迫时,过表达 *OsNAP* 基因,可增强逆境相关基因的含量,提高水稻对不同逆境的抗性<sup>[51]</sup>。

除上述 NAC 转录因子调控水稻对干旱、高盐、ABA、高温的耐受能力外, microRNA 和一些类似 NAC 转录因子也调节非生物胁迫的应答过程。microRNA 在生物体内不编码蛋白质,主要作用是激活或抑制靶基因的表达,涉及植物组织发育、代谢途径、信号通路和逆境应答等复杂的生理过程。miR164 属于一种在植物中普遍存在的保守 microRNA, miR164 通过负调控水稻靶基因 NAC 转录因子,上调表达干旱相关基因的含量,强化水稻对干旱的耐受能力<sup>[52]</sup>。另外,通过对类 NAC 转录因子 *BET1*(Boron excess tolerant 1) 基因,采用 RNA 干扰技术沉默该基因的表达,发现在沉默植株中耐硼毒的能力增强,而在过表达 *BET1* 基因植株中耐硼毒能力下降,说明 *BET1* 基因可以负调控水稻对硼毒胁迫响应的过程<sup>[53]</sup>。

然而,在不同的非生物逆境条件下,一些 NAC 转录因子表现出相反的调节作用,如在干旱条件下,过表达 *ONAC095* 基因的抑制突变体,上

调表达耐旱相关基因, 植株叶片失水速率降低, 抗旱能力上升; 而当该基因的抑制突变体处于冷害条件下, 能促进活性氧、丙二醛的含量升高, 下调表达耐冷相关基因, 其耐冷性下降<sup>[54]</sup>。此外, 一些 NAC 基因过量表达后, 会对植物产生不利的影 响, 导致植株变矮、生长周期变长、抽穗期延迟、结实率偏低等, 针对这些不利因素可以使用一些诱导型启动子来进行改善。

#### 4.3 水稻 NAC 家族在抗病中的功能

NAC 转录因子除了响应非生物胁迫外, 还涉及生物胁迫应答过程, 如真菌、细菌和病毒等。当病原菌入侵植物时, 机体主要依赖于激素介导的抗病信号途径, 激活或阻遏相关基因的表达, 引起植物的抗病反应。目前, 在水稻中, 已发现大部分 NAC 基因受多种激素的诱导表达, 并且也证实了一些 NAC 基因参与水稻的抗病防卫反应, 如 *OsNAC4*、*OsNAC6*、*OsNAC19*、*OsNAC122*、*OsNAC131*、*R1M1* 等。

如前所述, 水稻 *OsNAC6* 基因不仅受非生物因素的诱导表达, 而且还受到真菌病害的胁迫表达。当稻瘟病菌侵染水稻时, 过表达 *OsNAC6* 基因, 能够减少稻瘟病的病变范围, 提高水稻抗稻瘟病菌的能力<sup>[55]</sup>。*OsNAC19* 基因在水稻叶片中受稻瘟病菌和 MeJA、乙醇和 ABA 的诱导, 其在稻瘟病菌侵染相关转录激活途径和 MeJA 介导的信号通路中起一定作用<sup>[56]</sup>。水稻 *ONAC122* 和 *ONAC131* 基因是两个同源基因, 且受到稻瘟病菌、甲酯、JA、水杨酸等诱导表达。利用基因沉默 (virus-induced gene silencing, VIGS) 技术分别对 *ONAC122* 和 *ONAC131* 基因在水稻 IR64 中进行基因沉默表达, 与正常植株相比, 在沉默植株中两个基因感水稻稻瘟病的能力增强, 且与防御相关基因 *OsLOX*、*OsWRKY45*、*OsPR1a* 等均表达下调, 表明 *ONAC122* 和 *ONAC131* 调控上述防御基因对水稻稻瘟病的抗性<sup>[57]</sup>。过表达 *OsNAC111* 的水稻能增加对稻瘟病的抗性, 与对照组相比, 上调与抗病相关基因的表达, 如几丁质酶和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶基因<sup>[58]</sup>。Wang 等<sup>[59]</sup> 研究了水稻 *Osa-miR164a* 及靶基因 *OsNAC60* 对稻瘟病抗性的关系, 将过表达 *Osa-miR164a* 和转座子插入突变体 *OsNAC60* 基因分别转化水稻, 两者的转基因植株均对稻瘟病的抗性降低, 而过表达 *OsNAC60* 转基

因植物对稻瘟病的抗性增强。说明 *Osa-miR164a* 对靶基因 *OsNAC60* 的调节作用, *Osa-miR164a* 负调控水稻对稻瘟病的防御反应。

当活的植物受到病毒入侵时, 会扰乱体内的代谢途径, 出现一些矮化、白化、畸形等不利症状。水稻 NAC 转录因子 RIM1 在受矮缩病毒 (rice dwarf virus, RDV) 侵染时, 在过表达 *RIM1* 转基因植株中, RDV 病斑提前发生, 病毒复制的数目增多, 植株表现出不抗 RDV; 而在缺失突变体 *rim1* 转基因植株中, 无病害症状, 病毒数量明显减少, 植株抗 RDV<sup>[60]</sup>。说明 RIM1 参与 RDV 复制的过程, 并且负调控 JA 信号转导过程。

## 5 展望

NAC 转录因子家族广泛参与植物对外界环境胁迫应答的过程, 并在其中扮演重要角色。近年来, 通过不断开展水稻的功能基因组研究, 已逐渐发掘和鉴定大部分 NAC 逆境相关基因, 成功转化水稻或其他植物, 并在遭遇外界逆境胁迫响应中发挥一定功能。如 *SNAC1/OsNAC9*、*SNAC3*、*OsNAC5*、*OsNAC10* 和 *OsNAP* 等转基因水稻, 均能在营养或生殖生长期提高水稻的耐旱能力, 并提高水稻的产量。但是在水稻整个生长发育周期过程中, 从整体上能完全提高水稻抗逆性的 NAC 基因相对较少, 首先可能是目的基因自身的功能存在欠缺, 多数 NAC 基因在苗期表现抗逆性, 而在生殖生长期抗逆性下降或消失; 其次抗逆性与多基因的数量性状有密切关系, 易受外界因素的影响, 与质量性状相比, 其研究相对复杂。因此, 可以采取多个抗逆基因的基因聚合来提高水稻或其他植物的整体抗逆性。一是通过转基因技术, 探索将多个抗逆基因分多次转入; 二是通过常规杂交育种, 将含有不同抗逆基因的材料杂交, 最终实现多基因的聚合。另外需要同时在营养生长期和生殖生长期进行抗逆性鉴定, 便于明确目的基因潜在的利用价值, 获得不影响生长却能提高产量的抗逆品种。

在水稻抵御病害的过程中, NAC 转录因子发挥着关键的作用。已通过构建缺失突变体、过表达载体、基因沉默等方法, 增强水稻的抗病能力。已有大量研究证实, NAC 转录因子参与植物的抗逆反应, 并与其他蛋白相互作用, 如依赖于钙的蛋白激酶、WRKY、MYB 及 ATDOF5.8 等。目前对

NAC 转录因子的调控机制及下游靶基因的作用尚不明确, 因此今后需要加强和深入这方面的研究, 以便更加明确 NAC 转录因子在抗逆反应中的机制和角色。另外, 过表达 NAC 转录因子提高植物抗逆性, 也会伴随着一些负面的影响, 如转基因水稻植株矮化、生长滞后、发育不良和产量降低等。在今后的研究和实际应用中, 可使用组织特异性启动子(如根特异性启动子)和受胁迫诱导启动子来实现一个或多个 NAC 基因在水稻中的应用。在增强水稻抗逆性的同时, 应加强分析转基因水稻产生不利性状的原因及调控机制, 利于减轻或消除 NAC 转化基因所产生的负面效应, 这对于作物抗逆遗传改良以及在育种中的应用, 具有重要的意义和前景。

### 参考文献:

- [ 1 ] Hussey SG, Saïdi MN, Hefer CA, Myburg AA, Grima-Pettenati J. Structural, evolutionary and functional analysis of the NAC domain protein family in *Eucalyptus* [J]. *New Phytol*, 2015, 206(4): 1337–1350.
- [ 2 ] 唐宽刚, 任美艳, 张文君, 庞新跃, 薛敏, 等. 沙冬青 *AmNAC6* 基因的克隆与功能初步分析[J]. *植物科学学报*, 2018, 36(5): 705–712.  
Tang KG, Ren MY, Zhang WJ, Pang XY, Xue M, et al. Cloning and preliminary functional analysis of *AmNAC6* from *Ammopiptanthus mongolicus* [J]. *Plant Science Journal*, 2018, 36(5): 705–712.
- [ 3 ] Chung PJ, Jung H, Yang DC, Kim JK. Genome-wide analyses of direct target genes for four rice NAC-domain transcription factors involved in drought tolerance [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 40.
- [ 4 ] Puranik S, Sahu PP, Srivastava PS, Prasad M. NAC: regulation and role in stress tolerance[J]. *Trends Plant*, 2012, 17(6): 369–381.
- [ 5 ] Nuruzzaman M, Sharoni AM, Kikuchi S. Roles of NAC transcription factors in the regulation of biotic and abiotic stress responses in plants[J]. *Front Microbiol*, 2013, 4: 248.
- [ 6 ] Zhang J, Li L, Huang LP, Zhang MM, Chen ZY, et al. Maize NAC-domain retained splice variants act as dominant negatives to interfere with the full-length NAC counterparts[J]. *Plant Sci*, 2019, 289: 110256.
- [ 7 ] Jensen MK, Kjaersgaard T, Nielsen MM, Galberg P, Petersen K, et al. The *Arabidopsis thaliana* NAC transcription factor family: structure-function relationships and determinants of ANAC019 stress signalling[J]. *Bio J*, 2010, 426(2): 183–196.
- [ 8 ] Ernst HA, Olsen AN, Skriver K, Larsen S, Leggio LL. Structure of the conserved domain of ANAC, a member of the NAC family of transcription factors [J]. *Embo Rep*, 2014, 5(3): 297–303.
- [ 9 ] Zhang Y, Yun Z, Gong L, Qu H, Duan X, et al. Comparison of miRNA evolution and function in plants and animals [J]. *Microna*, 2018, 7(1): 4–10.
- [ 10 ] Lee MH, Jeon HS, Kim HG, Park OK. An *Arabidopsis* NAC transcription factor NAC4 promotes pathogen-induced cell death under negative regulation by microRNA164[J]. *New Phytol*, 2017, 214(1): 343–360.
- [ 11 ] Guo HS, Xie Q, Fei JF, Chua NH. MicroRNA directs mRNA cleavage of the transcription factor NAC1 to down-regulate auxin signals for *Arabidopsis* lateral root development[J]. *Plant Cell*, 2005, 17(5): 1376–1386.
- [ 12 ] Lee MH, Jeon HS, Kim HG, Park OK. An *Arabidopsis* NAC transcription factor NAC4 promotes pathogen-induced cell death under negative regulation by microRNA164 [J]. 2017, *New Phytol*, 214(1): 343–360.
- [ 13 ] Li YF, Zheng Y, Addo-Quaye C, Zhang L, Saini A, et al. Transcriptome-wide identification of microRNA targets in rice[J]. *Plant J*, 2010, 62(5): 742–759.
- [ 14 ] Fang Y, Xie K, Xiong L. Conserved miR164-targeted NAC genes negatively regulate drought resistance in rice[J]. *J Exp Bot*, 2014, 65(8): 2119–2135.
- [ 15 ] Xu X, Bai H, Liu C, Chen E, Chen Q, et al. Genome-wide analysis of microRNAs and their target genes related to leaf senescence of rice[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e114313.
- [ 16 ] Xie Q, Guo HS, Dallman G, Fang S, Weissman AM, et al. SINAT5 promotes ubiquitin-related degradation of NAC1 to attenuate auxin signals [J]. *Nature*, 2002, 419(6903): 167–170.
- [ 17 ] Kleinow T, Himbert S, Krenz B, Jeske H, Koncz C. NAC domain transcription factor ATAF1 interacts with SNF1-related kinases and silencing of its subfamily causes severe developmental defects in *Arabidopsis* [J]. *Plant Sci*, 2009, 177(4): 360–370.
- [ 18 ] Kaneda T, Taga Y, Takai R, Iwano M, Matsui H, et al. The transcription factor OsNAC4 is a key positive regulator of plant hypersensitive cell death [J]. *EMBO J*, 2009, 28(7): 926–936.
- [ 19 ] Kikuchi K, Ueguchi-Tanaka M, Yoshida KT, Nagato Y, Matsusoka M, et al. Molecular analysis of the NAC gene family in rice [J]. *Mol Gen Genet*, 2000, 262(6): 1047–1051.
- [ 20 ] Ooka H. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana* [J]. *DNA Res*, 2003, 10(6): 239–247.
- [ 21 ] Fang YJ, You J, Xie K, Xie WB, Xiong LZ. Systematic se-

- quence analysis and identification of tissue-specific or stress-responsive genes of NAC transcription factor family in rice[J]. *Mol Genet Genomics*, 2008, 280: 547–563.
- [22] Nuruzzaman M, Manimekhalai R, Sharoni AM, Satoh K, Kondoh H, *et al.* Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice[J]. *Gene*, 2010, 465(1–2): 30–44.
- [23] 段俊枝, 李莹, 赵明忠, 魏小春, 任银铃. NAC 转录因子在水稻抗逆基因工程中的应用进展[J]. *中国稻米*, 2017, 23(6): 37–42.
- Duan JZ, Li Y, Zhao MZ, Wei XC, Ren YL. Progress on application of NAC transcription factors in rice stress tolerance genetic engineering[J]. *China Rice*, 2017, 23(6): 37–42.
- [24] 孙利军. 水稻 ONAC 家族基因重叠表达特性及其在抗病逆境中的功能研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [25] Wang Z, Dane F. NAC (NAM/ATAF/CUC) transcription factors in different stresses and their signaling pathway [J]. *Acta Physiol Plantarum*, 2013, 35: 1397–1408.
- [26] Huang DB, Wang SG, Zhang BC, Shang-Guan KK, Shi YY, *et al.* A gibberellin-mediated DELLA-NAC signaling cascade regulates cellulose synthesis in rice[J]. *Plant Cell*, 2015, 27(6): 1681–1696.
- [27] Chen X, Lu SC, Wang YF, Zhang X, Lü B, *et al.* OsNAC2 encoding a NAC transcription factor that affects plant height through mediating the gibberellic acid pathway in rice[J]. *Plant J*, 2015, 82(2): 302–314.
- [28] Mao CJ, Lu SC, Lü B, Zhang B, Shen JB, *et al.* A rice NAC transcription factor promotes leaf senescence via ABA biosynthesis [J]. *Plant Physiol*, 2017, 174(3): 1747–1763.
- [29] Shen JB, Lü B, Luo LQ, He JM, Mao CJ, *et al.* The NAC-type transcription factor OsNAC2 regulates ABA-dependent genes and abiotic stress tolerance in rice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40641.
- [30] Zhou Y, Huang WF, Liu L, Chen TY, Zhou F, *et al.* Identification and functional characterization of a rice NAC gene involved in the regulation of leaf senescence [J]. *BMC Plant Biol*, 2013, 13(1): 132.
- [31] El Mannai Y, Akabane K, Hiratsu K, Satoh-nagasawa N, Wabiko H. The NAC transcription factor gene *OsY37* (*ONAC011*) promotes leaf senescence and accelerates heading time in rice[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(10): 2165.
- [32] Ye Y, Wu K, Chen J, Liu Q, Wu Y, *et al.* OsSND2, a NAC family transcription factor, is involved in secondary cell wall biosynthesis through regulating MYBs expression in rice[J]. *Rice*, 2018, 11(1): 36.
- [33] Yokotani N, Ichikawa T, Kondou Y, Matsui M, Hirochika H, *et al.* Tolerance to various environmental stresses conferred by the salt-responsive rice gene *ONAC063* in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2009, 229(5): 1065–1075.
- [34] Sakuraba Y, Piao W, Lim JH, Han SH, Kim YS, *et al.* Rice *ONAC106* inhibits leaf senescence and increases salt tolerance and tiller angle[J]. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56(12): 2325–2339.
- [35] Wang B, Zhong ZH, Zhang HH, Wang X, Liu BL, *et al.* Targeted mutagenesis of NAC transcription factor gene, *OsNAC041*, leading to salt sensitivity in rice[J]. *Rice Sci*, 2019, 26(2): 98–108.
- [36] Fang YJ, Liao KF, Du H, Xu Y, Song HZ, *et al.* A stress-responsive NAC transcription factor SNAC3 confers heat and drought tolerance through modulation of reactive oxygen species in rice[J]. *J Exp Bot*, 2015, 66(21): 6803–6817.
- [37] Gao F, Xiong AS, Peng RH, Jin XF, Zhu B, *et al.* OsNAC52, a rice NAC transcription factor, potentially responds to ABA and confers drought tolerance in transgenic plants [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2010, 100(3): 255–262.
- [38] Hu HH, Dai MQ, Yao JL, Xiao BZ, Xiong LH. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(35): 12987–12992.
- [39] Liu GZ, Li XL, Jin SX, Liu XY, Zhu LF, *et al.* Overexpression of rice NAC gene *SNAC1* improves drought and salt tolerance by enhancing root development and reducing transpiration rate in transgenic cotton [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e86895.
- [40] Redillas C, Jeong JS, Kim YS, Jung H, Bang SW, *et al.* The overexpression of *OsNAC9* alters the root architecture of rice plants enhancing drought resistance and grain yield under field conditions[J]. *Plant Biotechnol J*, 2012, 10(7): 792–805.
- [41] You J, Zong W, Du H, Hu HH, Xiong LZ. A special member of the rice SRO family, *OsSRO1c*, mediates responses to multiple abiotic stresses through interaction with various transcription factors [J]. *Plant Mol Biol*, 2014, 84(6): 693–705.
- [42] You J, Zong W, Hu HH, Li XH, Xiao JH, *et al.* A STRESS-RESPONSIVE NAC1-regulated protein phosphatase gene rice protein phosphatase18 modulates drought and oxidative stress tolerance through abscisic acid-independent reactive oxygen species scavenging in rice[J]. *Plant Physiol*, 2014, 166(4): 2100–2114.
- [43] Zheng XN, Zhen B, Lu GJ, Han B. Overexpression of a NAC transcription factor enhances rice drought and salt tolerance[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379

- (4): 985–989.
- [44] Jeong JS, Kim YS, Baek KH, Jung H, Ha SH, *et al.* Root-specific expression of *OsNAC10* improves drought tolerance and grain yield in rice under field drought conditions[J]. *Plant Physiol*, 2010, 153(1): 185–197.
- [45] Hong Y, Zhang H, Huang L, Li D, Song F. Overexpression of a stress-responsive NAC transcription factor gene *ONAC022* improves drought and salt tolerance in rice[J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 4.
- [46] Hu HH, You J, Fang YJ, Zhu XY, Qi ZY, *et al.* Erratum to: characterization of transcription factor gene *SNAC2* conferring cold and salt tolerance in rice[J]. *Plant Mol Biol*, 2010, 72: 567–568.
- [47] Rachmat A, Nugroho S, Sukma D, Aswidinnoor H. Overexpression of *OsNAC6* transcription factor from Indonesia rice cultivar enhances drought and salt tolerance[J]. *Emir J Food Agr*, 2014, 26(6): 519–527.
- [48] Chung PJ, Kim YS, Jeong JS, Park SH, Nahm BH, *et al.* The histone deacetylase *OsHDAC1* epigenetically regulates the *OsNAC6* gene that control seedling root growth in rice[J]. *Plant J*, 2009, 59(5): 764–776.
- [49] Lee DK, Chung PJ, Jeong JS, Jang G, Bang SW, *et al.* The rice *OsNAC6* transcription factor orchestrates multiple molecular mechanisms involving root structural adaptations and nicotianamine biosynthesis for drought tolerance[J]. *Plant Biotechnol J*, 2017, 15(6): 754–764.
- [50] Jeong JS, Kim YS, Redillas MC, Jang G, Jung H, *et al.* *OsNAC5* overexpression enlarges root diameter in rice plants leading to enhanced drought tolerance and increased grain yield in the field[J]. *Plant Biotechnol J*, 2013, 11(1): 101–114.
- [51] Chen X, Wang YF, Lü B, Li J, Luo LQ, *et al.* The NAC family transcription factor *OsNAP* confers abiotic stress response through the ABA pathway[J]. *Plant Cell Physiol*, 2014, 55(3): 604–619.
- [52] Fang Y, Xie K, Xiong L. Conserved miR164-targeted NAC genes negatively regulate drought resistance in rice[J]. *J Exp Bot*, 2014, 65(8): 2119–2135.
- [53] De Abreu Neto JB, Hurtado-Perez MC, Wimmer MA, Frei M. Genetic factors underlying boron toxicity tolerance in rice: genome-wide association study and transcriptomic analysis[J]. *J Exp Bot*, 2016, 68(3): 687–700.
- [54] Huang L, Hong YB, Zhang HJ, Li DY, Song FM. Rice NAC transcription factor *ONAC095* plays opposite roles in drought and cold stress tolerance[J]. *BMC Plant Biol*, 2016, 16(1): 203.
- [55] Nakashima K, Tran LP, Nguyen DV, Fujita M, Maruyama K, *et al.* Functional analysis of a NAC-type transcription factor *OsNAC6* involved in abiotic and biotic stress-responsive gene expression in rice[J]. *Plant J*, 2007, 51(4): 617–630.
- [56] Lin RM, Zhao WS, Meng XB, Wang M, Peng YL. Rice gene *OsNAC19* encodes a novel NAC-domain transcription factor and responds to infection by *Magnaporthe grisea*[J]. *Plant Sci*, 2007, 172(1): 120–130.
- [57] Sun LJ, Zhang HJ, Li DY, Huang L, Hong YB, *et al.* Functions of rice NAC transcriptional factors, *ONAC122* and *ONAC131*, in defense responses against *Magnaporthe grisea*[J]. *Plant Mol Biol*, 2013, 81(1–2): 41–56.
- [58] Yokotani N, Tsuchida-Mayama T, Ichikawa H, Mitsuda N, Ohme-Tak-agi M, *et al.* *OsNAC111*, a blast disease-response transcription factor in rice, positively regulates the expression of defense-related genes[J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2014, 27(10): 1027–1034.
- [59] Wang ZY, Xia YQ, Lin SY, Wang YR, Guo BH, *et al.* *Osa-miR164a* targets *OsNAC60* and negatively regulates rice immunity against the blast fungus *Magnaporthe oryzae*[J]. *Plant J*, 2018, 95(4): 584–597.
- [60] Yoshii M, Yamazaki M, Rakwal R, Kishi-kaboshi M, Miyao A, *et al.* The NAC transcription factor *RIM1* of rice is a new regulator of jasmonate signaling[J]. *Plant J*, 2010, 61(5): 804–815.

(责任编辑: 周媛)