北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

异源过表达桉树*EgrNAC*13提高拟南芥低温和高盐抗性

曹真 倪晓祥 程龙军

Overexpression of *Eucalyptus EgrNAC*13 in *Arabidopsis thaliana* enhances tolerance to cold and salinity

Cao Zhen, Ni Xiaoxiang, Cheng Longjun

引用本文:
曹真, 倪晓祥, 程龙军. 异源过表达桉树*EgrNAC*13提高拟南芥低温和高盐抗性[J]. 北京林业大学学报, 2026, 48(6):106–115. doi: 10.12171/j.1000–1522.20260249
Cao Zhen, Ni Xiaoxiang, Cheng Longjun. Overexpression of *Eucalyptus EgrNAC*13 in *Arabidopsis thaliana* enhances tolerance to cold and salinity[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(6):106–115. doi: 10.12171/j.1000–1522.20260249

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20260249

您可能感兴趣的其他文章
Articles you may be interested in

油松*PtDof*基因家族鉴定与*PtDof*1基因响应低温胁迫的功能分析
Identification of *PtDof* gene family and functional analysis of *PtDof*1 gene in response to low temperature stress in *Pinus tabuliformis*
北京林业大学学报, 2025, 47(10): 84–95. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250179

胡杨*PeHINT*2过表达提高植物耐盐性
Overexpression of *Populus euphratica PeHINT*2 to enhance plant salt tolerance
北京林业大学学报, 2025, 47(10): 96–107. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250262

山新杨*PdaGLK*1基因在盐胁迫响应中的功能研究
Functional study of *PdaGLK*1 gene in salt stress response of *Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis*
北京林业大学学报, 2025, 47(7): 11–20. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20240440

白桦*BpPAT*1基因的表达模式及耐盐性分析
Expression patterns and salt tolerance analysis of *BpPAT*1 gene in *Betula platyphylla*
北京林业大学学报, 2021, 43(10): 18–27. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200302

过表达胡杨*PePKS*5提高拟南芥耐盐性
Overexpression of *Populus euphratica PePKS*5 enhancing salt tolerance of *Arabidopsis thaliana*
北京林业大学学报, 2024, 46(2): 62–74. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20220480

过表达胡杨*PeCPK*7提高拟南芥耐盐性
Overexpression of *Populus euphratica PeCPK*7 enhancing salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*
北京林业大学学报, 2024, 46(11): 62–75. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20230302

DOI:10.12171/j.1000−1522.20260249

异源过表达桉树 *EgrNAC*13 提高拟南芥低温和高盐抗性

曹 真 倪晓祥 程龙军
（浙江农林大学，森林食物资源挖掘与利用全国重点实验室，浙江 杭州 311300）

摘要:【目的】解析巨桉中 SNAC 类转录因子基因 *EgrNAC*13 在低温、高盐等非生物逆境抗性中的功能及其潜在调控机制，以期为利用分子辅助育种技术改良桉树抗性提供基因资源和理论基础。**【方法】**通过对 EgrNAC13 及其跨物种同源蛋白进行多序列比对和系统进化分析，明确其蛋白结构和进化特征。构建 35S 驱动的 *EgrNAC*13 过表达载体异源转化拟南芥，在分析不同株系表达量的基础上，筛选 2 个过表达株系进行低温和盐胁迫处理，观察、分析过表达株系在逆境处理下的表型。并通过 SOD、POD 活性，以及低温处理不同时间下低温响应关键基因 *AtCBF*1、*AtCBF*2 和 *AtRD*29*A* 的 qRT-PCR 分析，初步探究 *EgrNAC*13 功能发挥的潜在机制。**【结果】**EgrNAC13 在进化上呈现单子叶、双子叶植物，以及木本和草本植物的明显分化，其在桃金娘科植物中呈现较高的氨基酸序列相似性。不同物种 EgrNAC13 同源蛋白中，NAM 结构域序列高度相似，暗示其功能具有保守性。*EgrNAC*13 过表达转基因拟南芥株系表现出明显的低温和高盐抗性。尤其是−6 ℃ 低温处理后，EgrNAC13-OE1 和 EgrNAC13-OE5 的存活率分别达到 81.6% 和 85.1%，显著高于野生型（32.3%）。4 ℃ 低温和高盐处理均可以提高过表达植株的 SOD 活性，而 POD 活性仅在高盐处理下的过表达株系中高于野生型，这表明 *EgrNAC*13 在低温和高盐逆境下，可以增强活性氧清除能力，提高植株的抗逆性。低温处理下，过表达植株中 *AtCBF*1 和 *AtCBF*2 的表达量分别在 4 ℃ 处理 3 h 和 12 h 显著高于野生型。而 *AtRD*29*A* 则在正常温度处理和低温处理的不同时间都在过表达株系中被显著诱导，暗示 *EgrNAC*13 主要通过对 CBF 途径的调控介导了植物的低温逆境响应。**【结论】**在桃金娘科植物中序列高度保守的桉树 *EgrNAC*13 能通过提高抗氧化酶活性，增强过表达拟南芥转基因株系的低温和高盐抗性，且其逆境响应的分子调控可能主要依赖 CBF 途径。研究结果为深入解析 *EgrNAC*13 在桉树中的抗逆功能和调控机制奠定了研究基础，也为桉树抗逆育种提供了潜在的基因资源。

关键词：巨桉；NAC 转录因子；分子功能；低温；高盐；抗逆育种；基因表达
中图分类号：S792.39；S722 **文献标志码：**A **文章编号：**1000−1522(2026)06−0106−10
引文格式：曹真，倪晓祥，程龙军. 异源过表达桉树 *EgrNAC*13 提高拟南芥低温和高盐抗性［J］. 北京林业大学学报，2026，48(6)：106−115. Cao Zhen, Ni Xiaoxiang, Cheng Longjun. Overexpression of *Eucalyptus EgrNAC*13 in *Arabidopsis thaliana* enhances tolerance to cold and salinity［J］. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(6): 106−115.

Overexpression of *Eucalyptus EgrNAC*13 in *Arabidopsis thaliana* enhances tolerance to cold and salinity

Cao Zhen Ni Xiaoxiang Cheng Longjun
(National Key Laboratory for Development and Utilization of Forest Food Resources, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract:［**Objective**］This study aimed to investigate the function and potential regulatory mechanisms of the *EgrNAC*13, a stress responsive NAC (SNAC) gene, in the abiotic stress responses of *Eucalyptus grandis*,

收稿日期: 2026−05−19 **修回日期:** 2026−06−08
基金项目: 浙江省农业（林木）新品种选育重大科技专项（2021C02070-6）。
第一作者: 曹真。主要研究方向：林木分子遗传。Email: caozhen@stu.zafu.edu.cn 地址：311300 浙江省杭州市临安区武肃街 666 号浙江农林大学林业与生物技术学院。
责任作者: 程龙军，教授。主要研究方向：林木分子遗传。Email: ljcheng@zju.edu.cn 地址：同上。
本刊网址: https://j.bjfu.edu.cn; https://journal.bjfu.edu.cn

particularly under cold and salinity conditions. The findings are expected to provide valuable genetic resources and a theoretical foundation for improving abiotic stress tolerance in *Eucalyptus* through molecular marker-assisted breeding. [**Method**] Multiple sequence alignment and phylogenetic analyses of EgrNAC13 and its homologs from different plant species were conducted to characterize its protein structure and evolutionary relationships. A *EgrNAC*13 overexpression vector, driven by 35S, was constructed and transformed into *Arabidopsis thaliana*. Based on transgene expression analysis of *EgrNAC*13 in transgenic lines, two overexpression lines were selected for cold and salt stress treatments, and their stress responsive phenotypes were evaluated. In addition, the potential regulatory mechanisms of *EgrNAC*13 were preliminarily explored by measuring superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) activities, as well as by analyzing the expression patterns of key cold responsive genes including *AtCBF*1, *AtCBF*2 and *AtRD*29*A* by qRT-PCR at different time points during cold treatment. [**Result**] Phylogenetic analysis revealed clear evolutionary divergence of EgrNAC13 between monocotyledonous and dicotyledonous plants, as well as between woody and herbaceous species. The protein exhibited high amino acid sequence conservation among Myrtaceae species. The NAM domain sequences of EgrNAC13 homologous proteins from different species are highly similar, indicating functional conservation among these proteins. Transgenic *Arabidopsis* lines overexpressing *EgrNAC*13 displayed significantly enhanced tolerance to both cold and salinity stress. Following exposure to −6 ℃, the survival rates of EgrNAC13-OE1 and EgrNAC13-OE5 reached 81.6% and 85.1%, respectively, which were significantly higher than that of the wild type (32.3%). Under both cold and salt stress conditions, SOD activity was significantly higher in the overexpression lines than in the wild type. POD activity, however, was significantly elevated only under salt stress. This indicate that *EgrNAC*13 can improve plant stress tolerance to low temperature and high salt stress by enhancing the scavenging capacity of reactive oxygen species. During cold treatment, the expression levels of *AtCBF*1 and *AtCBF*2 in the overexpression lines were significantly upregulated at 3 h and 12 h of 4 ℃ treatment, respectively. In contrast, *AtRD*29*A* expression was consistently and significantly induced in the overexpression lines under both normal and cold treatment conditions. Therefore, *EgrNAC*13 mediates plant responses to low temperature stress mainly by regulating the CBF pathway. [**Conclusion**] *EgrNAC*13, a highly conserved NAC transcription factor in Myrtaceae species, significantly enhances cold and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* by increasing antioxidant enzyme activities, particularly SOD and POD. Moreover, *EgrNAC*13 may mediate stress responses mainly through CBF-dependent pathways. These findings provide a foundation for further elucidation of the stress resistance functions and molecular mechanisms of *EgrNAC*13 in *Eucalyptus* and offer promising genetic resources for stress tolerant breeding programs.

Key words: *Eucalyptus grandis*; NAC transcription factor; molecular function; low temperature; salt stress; stress-resistant breeding; gene expression

在全球气候变化加剧的大背景下，极端低温、干旱、土壤盐碱化等环境问题频发，植物遭受非生物逆境胁迫的强度与频次持续上升，对农林植物的正常生长、产量形成以及生态系统稳定构成严峻挑战。在此形势下，深入解析植物逆境应答的分子机制，挖掘并利用抗逆相关基因资源，不仅有助于阐明植物适应环境变化的内在规律，也可为培育高抗逆种质、保障农林产业可持续发展提供重要理论支撑[1−2]。低温、盐碱、干旱等非生物逆境胁迫是影响植物生长发育的主要胁迫因子，为应对这些环境胁迫的威胁，植物在长期进化中形成了从分子到生理层面的一系列适应机制[3−4]。而在逆境胁迫适应过程中，包括 bZIP、WRKY、AP2/ERF、NAC 等转录因子通过调控基因表达，在植物非生物逆境响应中发挥着重要作用[5−6]。其中，NAC（NAM、ATAF 和 CUC）作为植物中最大转录因子家族之一，在植物低温、干旱、盐等非生物逆境胁迫响应中的作用日益受到关注[7−8]。

NAC 类转录因子是植物中特有的转录因子家族，其蛋白 N 端含有一段约 150 个氨基酸的高度保守结构域（由 A、B、C、D 和 E 5 个部分组成），负责蛋白的 DNA 结合、二聚化以及定位等功能[7]。NAC 转录因子家族在拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）、水稻

(*Oryza stativa*)、毛果杨(*Populus trichocarpa*)中分别含有 118、151 和 170 个成员，是陆生植物中最大的转录因子家族之一[9−10]。该转录因子广泛参与植物的生长、发育和环境响应等各个生理过程，在胚胎发生、根茎叶发育、花器官形成、果实成熟、次生细胞壁形成及衰老等过程中均发挥重要作用[11−12]。而在非生物逆境响应中，一类称为 SNAC(stress-responsive NAC)的成员可响应低温、干旱、高盐等各种胁迫，提高植物非生物逆境适应性[13]。例如，拟南芥中的 *ANAC*019、*ANAC*055 和 *ANAC*072/*RD*26 等 NAC 成员受干旱、盐胁迫和 ABA 诱导，这些基因过表达可增强植株对低温、干旱和盐胁迫等非生物逆境的抗性[14−15]。近年来，越来越多的 NAC 转录因子被证实参与植物的非生物逆境响应。*ONAC*095 能促进水稻的冷胁迫抗性，但是却在干旱响应中发挥负调控作用[16]。胡杨(*Populus euphratica*)*PeNAC*029 还可以通过抑制磷脂酸信号通路，影响质膜 Na^+/H^+反向转运体基因 *PeSOS*1 表达，从而降低胡杨的盐耐受性[17]。大豆(*Glycine max*)*GmNAC*035 在盐胁迫下迅速被诱导，其过表达转基因拟南芥植株可以通过降低氧化损伤，促进逆境胁迫基因的表达，进而增加其耐盐性[18]。上述结果充分表明 NAC 转录因子在植物非生物逆境调控中的重要性。

桉树(*Eucalyptus* spp.)原产澳大利亚，属桃金娘科(Myrtaceae)桉属植物。作为世界上生长速度最快的树种之一，巨桉(*E. grandis*)等桉树品种在我国广东、广西和福建等南方各省广泛种植，为林业产业发展做出了重要贡献。然而，目前栽培的大部分桉树品种对低温、干旱和高盐等逆境胁迫较为敏感，不但严重限制了其栽培范围的扩大，同时极端低温灾害也经常给桉树栽培产业造成严重的损失[19]。探究巨桉的非生物抗性分子机制，对进一步拓展木本植物抗逆分子理论，并应用分子辅助育种技术培育优良抗逆桉树品种，均具有重要意义。本课题组在前期针对巨桉 NAC 类转录因子的研究[20]中发现了 1 个 SNAC 类基因 *EgrNAC*13，其在叶片中的表达迅速且持续的受低温诱导，在干旱和盐胁迫下其表达水平也显著高于对照。另外，其启动子区域含有多个与逆境响应相关的顺式作用元件，这些结果都暗示 *EgrNAC*13 可能参与桉树的非生物逆境响应。为进一步探究 *EgrNAC*13 基因在非生物逆境响应中的功能和潜在的抗逆相关分子机制，本研究拟对 EgrNAC13 及其跨物种同源蛋白进行多序列比对和系统进化分析，在明确其蛋白结构和进化特征的基础上，在拟南芥中异源过表达 *EgrNAC*13，分析转基因株系对低温、高盐胁迫的响应，初步探讨 *EgrNAC*13 调控非生物逆境胁迫的生理和分子机制，以期为桉树高抗逆品种的培育提供重要的基因资源，助力提升桉树栽培生产力和林业可持续发展。

1 材料与方法

1.1 植物材料

桉树材料为浙江农林大学保存的巨桉 G5 无性系材料。转基因受体为本实验室保存的野生型拟南芥哥伦比亚(Col)，生长环境条件为 25 ℃ 16 h 光照，22 ℃ 8 h 黑暗，相对湿度 65%，光照强度设置为 100 μmol/(m^2·s)。

1.2 研究方法

1.2.1 EgrNAC13 蛋白序列分析

为明确 EgrNAC13 及其不同物种中的同源物之间的进化关系和蛋白结构特征。首先在 Phytozome 数据库(http://www.phytozome.net/search.php)中获取 EgrNAC13(编号：Eucgr.I00059)的蛋白序列。利用 ProtParam 在线软件(http://web.expasy.Org/protparam/)分析 EgrNAC13 蛋白的相对分子量和理论等电点。在 NCBI 网站(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)在线对其进行序列同源性比对，在结果中选择与 EgrNAC13 蛋白序列相似程度较高的其他植物的 NAC 蛋白序列，使用 ClustalX 软件对 EgrNAC13 及其他物种中与其氨基酸序列相似度较高的蛋白进行多序列比对。将比对后的文件导入 MEGA7.0 软件，选择最大似然法(maximum likelihood, ML)，并设置自举数(bootstrap)为 1 000，进行系统发育进化树的构建。

1.2.2 *EgrNAC*13 过表达载体构建

基因在植物中的过表达是研究基因功能的一个重要策略，为进一步探讨 *EgrNAC*13 的功能，构建 *EgrNAC*13 的过表达载体，创制过表达遗传材料。首先，利用 Gateway 系统进行超表达载体构建，载体骨架选用含 35S 启动子的 pGWB8，使用 Primer Premier 5 设计引物(表 1)。使用 RNA 提取试剂盒(DP441，TIANGEN，北京)，提取巨桉叶片 RNA，并用 PrimerScriptTM RT reagent Kit(TaKaRa，日本)逆转录为 cDNA，作为模板进行 PCR 扩增，扩增产物利用 BP ClonaseTM Enzyme Mix(Thermo Scientific，美国)与入门载体 pCR8 进行重组反应。获得的阳性克隆测序正确后，再用 LR ClonaseTM Enzyme Mix (Thermo Scientific，美国)进行 Gateway 重组、转化、测序。

1.2.3 拟南芥 *EgrNAC*13 过表达的遗传转化

将 1.2.2 中测序正确的克隆，扩繁后提取质粒，利用电转法转入农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)

表 1　引物列表

Tab. 1　List of primers used

用途	引物名	引物序列(5′—3′)
载体构建	EgrNAC13-F	GGGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTCTGATGAAGAGGGCGCAGTT
	EgrNAC13-R	GGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTCTCTCATGATCAGAATGACTTCTGCAA
转基因株系鉴定	qEgrNAC13-F	GGACGACGAGTTGGTG
	qEgrNAC13-R	CTTTCGCTGTGCTACTGGAT
实时荧光定量	qAtActin-F	GAAATCACAGCACTTGCACC
	qAtActin-R	AAGCCTTTGATCTTGAGAGC
	qAtCBF1-F	TCGGGACTTTCCAAACCG
	qAtCBF1-R	CCATCTCCTTCGCCGTCAT
	qAtCBF2-F	TCCTCAGGCGGTGATTACAGT
	qAtCBF2-R	TCCCCAACATCGCCTCTTC
	qAtRD29A-F	CAACGAGGGGAAGATAAAAGTGT
	qAtRD29A-R	AGCCAGATGATTTTGGAGCCT

注: 下划线标识的序列为 attB1与attB2 重组位点。

GV3101 中，浸花法转化拟南芥。T0 代种子播在含 50 μg/mL 卡那霉素(Kanamycin)的 1/2MS 培养基上进行筛选，获得的阳性株系提取叶片 DNA，分别以 *EgrNAC*13 和参考基因 *AtActin* 的特异引物进行 PCR 扩增，进行转基因阳性株系分子鉴定。然后，利用 qRT-PCR 进行基因表达量分析。培养 10 d 后使用 RNA 提取试剂盒(DP441, TIANGEN，北京)提取莲座叶片 RNA，用 PrimerScript™ RT reagent Kit (TaKaRa，日本) 反转录为 cDNA，设计引物 (表 1)，以 *AtActin* 为内参，进行 qRT-PCR 分析，分析转基因纯合株系中 *EgrNAC*13 的表达情况。选择表达量适当的阳性转基因株系继续进行繁殖、筛选，直至获得 T3 代转基因纯合株系。

1.2.4　*EgrNAC*13 过表达植株的低温、高盐处理

为进一步明确 *EgrNAC*13 在低温和高盐逆境胁迫中发挥的功能，对 *EgrNAC*13 过表达株系分别进行低温和高盐处理。将消毒后的 EgrNAC13-OE1、EgrNAC13-OE5 和野生型 Col 种子播在 1/2 MS 培养基上，4 ℃ 春化处理 2 d 后置于生长培养室继续生长 1 周，移至装有定量营养土的育苗盆中生长，每盆移栽 9 株，野生型和不同转基因株系处理各 3 盆，重复 3 次，进行低温、高盐处理。

低温处理：将长势一致的 3 周龄转基因株系和野生型转移至低温培养生长箱(Snijders MC1000，荷兰；培养箱温度控制精度 ± 0.1 ℃，控温区间−15 ~ 50 ℃)，−6 ℃ 处理 12 h，再于 4 ℃ 恢复 24 h，后转移至正常条件，恢复至第 5、12 天时观察表型拍照并统计存活率。

盐处理：根据 Wen 等[21]方法进行盐处理。待野生型和转基因幼苗生长两周后，每个苗盆间隔 1 d 浇灌 200 mL 300 mmol/L NaCl 溶液，持续处理 2 周后浇灌清水恢复一周，对照组全程浇灌清水处理，观察表型并记录。

1.2.5　低温、高盐处理下 *EgrNAC*13 过表达植株中抗氧化酶测定

低温、高盐等逆境往往会造成活性氧(ROS)的大量积累，给细胞造成严重损伤。因此，转基因植株中抗氧化酶活性的变化，在一定程度上可以反映植株抗逆性的变化[22]。为了测定低温、高盐处理下 *EgrNAC*13 过表达植株中抗氧化酶活性，将育苗盆中长势良好的两周龄 *EgrNAC*13 过表达拟南芥与野生型幼苗，进行低温和高盐处理，盐处理方法同 1.2.4，处理 7 d 作为盐处理组；低温处理于低温培养箱中进行，4 ℃ 处理 24 h，以正常温度生长的植株作为对照。每处理进行 3 次生物学重复。处理结束后，每处理取野生型和不同过表达株系完全展开的莲座叶成年叶片约 0.5 g，根据参考文献分别采用氮蓝四唑(NBT)法[23]进行超氧化物歧化酶(SOD)测定；并采用愈创木酚法[24]进行过氧化物酶(POD)测定。

1.2.6　低温处理下相关基因的定量表达分析

为进一步了解 *EgrNAC*13 参与低温响应的分子机制，开展了转基因株系中低温响应关键基因 *AtCBF*1、*AtCBF*2 和 *AtRD*29*A* 的 qRT-PCR 分析。分别于 4 ℃ 低温生长箱中，对生长良好、长势一致的野生型和转基因株系进行 3、12 h 低温处理，以正常温度下生长的植株作为对照。处理完毕后，取完全展开的莲座叶片按 1.4 中的方法提取 RNA，进行反转录。使用 Primer Premier 5 设计 *AtCBF*1、*AtCBF*2

和 *AtRD29A* 等引物(表 1)，进行 qRT-PCR。实验采用 TB Green Premix Ex Taq II(Tli RNaseH Plus)(Takara，大连)试剂盒进行，反应条件为 95 ℃ 预变性 30 s；95 ℃ 5 s，60 ℃ 20 s，72 ℃ 20 s，设置 40 个循环，3 个重复。定量结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

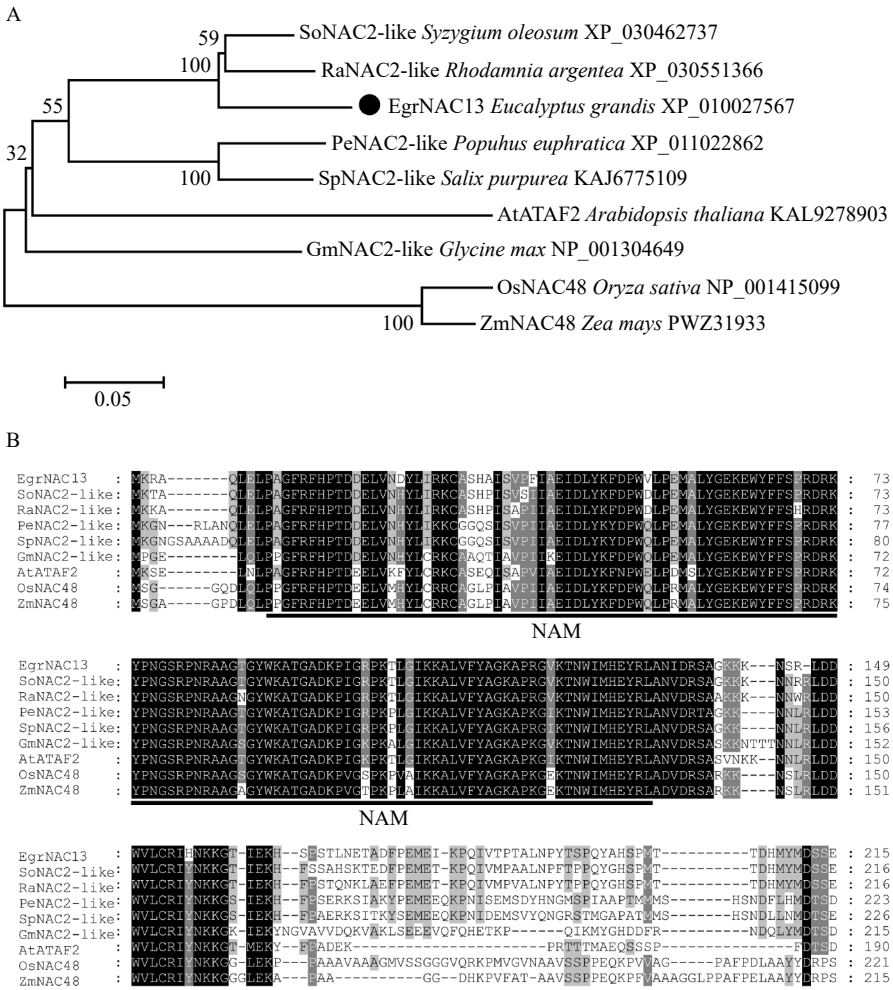
1.3 统计与分析

显著性检验采用 SPSS(16.0)软件进行 *t* 检验，作图软件为 GraphPad Prism(ver 6. 01)。

2 结果与分析

2.1 *EgrNAC*13 基因及编码蛋白序列分析

Phytozome 数据库中 *EgrNAC*13 基因的注释信息表明，其位于桉树基因组第 9 条染色体上，基因 cDNA 长度为 1 423 bp，含 2 个内含子，开放阅读框长度为 882 bp，编码含有 293 个氨基酸的蛋白。预测其相对分子量为 33.79 kDa，等电点为 6.12。与其氨基酸序列相似程度比较高的其他物种中直系同源蛋白系统进化树分析结果表明，EgrNAC13 与桃金娘科的油蒲桃(*Syzygium oleosum*)、银叶红鳞桃(*Rhodamnia argentea*)中的 SoNAC2-like 和 RaNAC2-like 亲缘关系比较近，氨基酸序列相似性分别达到了 87.07% 和 86.39%。另外，与草本植物拟南芥和大豆相比，EgrNAC13 与另外两个木本植物杨树和紫柳(*Salix purpurea*)中的 NAC2-like 在序列上也具有更高相似性。但同时，这些双子叶植物中 EgrNAC13 的直系同源物与单子叶植物水稻(*Oryza sativa*)和玉米(*Zea mays*)中直系同源蛋白具有明确的分化，属于两个界限明显的分支。EgrNAC13 与水稻中 OsNAC48 以及玉米中 ZmNAC48 的氨基酸序列相似性仅分别为 56.19% 和 56.61%(图 1A)。这表明 EgrNAC13 的直系同源蛋白在进化中产生了双子叶和单子叶植物间以及木本和草本植物间的分化。多序列比对的结果(图 1B)表明，所有蛋白均含有典型的 NAM 结构域。而且涵盖了单子叶植物、双子叶植物以及木本植物和草本植物的这些蛋白中，NAM 结构域位置处的氨基酸序列相似程度非常高，均达到了 87% 以上。NAM 结构域是决定 NAC 蛋白功能的主要部分，推测这些蛋白在功能上可能也存在保守性。



Egr. 巨桉；So. 油蒲桃；Ra. 银叶红鳞桃；Pe. 杨树；Sp. 紫柳；At. 拟南芥；Gm. 大豆；Os. 水稻；Zm. 玉米

图 1 EgrNAC13 直系同源蛋白系统进化树(A)和氨基酸多序列比对分析(B)

Fig. 1 Phylogenetic tree (A) and multiple sequence alignment analysis (B) of EgrNAC13 orthologous proteins

2.2　*EgrNAC*13 过表达转基因拟南芥阳性株系鉴定

鉴于巨桉尚无完善的转化体系，通过 *EgrNAC*13 异源转化拟南芥，来初步研究其在植物抗逆中的功能。通过遗传转化，获得 3 个阳性株系，提取阳性株系 DNA，用 *EgrNAC*13 特异引物进行扩增，并以 *AtActin* 作为 DNA 质量的参照。结果（图 2A）表明，3 个株系中都有 *EgrNAC*13 基因的插入，而野生型 Col 中无 *EgrNAC*13 基因序列的产物，但 *AtActin* 产物正常，表明 3 个株系均为遗传转化成功的株系。同时，提取 3 个株系叶片的 RNA 反转录为 cDNA 后，对 *EgrNAC*13 在 EgrNAC13-OE1、EgrNAC13-OE4 和 EgrNAC13-OE5 的表达水平进行 qRT-PCR 分析，发现 EgrNAC13-OE5 株系中的表达量最高，而 EgrNAC13-OE4 的表达量最低（图 2B）。因此，选择 EgrNAC13-OE1 和 EgrNAC13-OE5 株系继续繁殖至 T3 代纯合株系，开展进一步的实验。

2.3　*EgrNAC*13 过表达株系在低温、高盐处理下的表型分析

获得 *EgrNAC*13 过表达纯合株系后，首先对正常培养条件下，转基因株系和野生型之间的表型差异进行分析，结果表明过表达株系和野生型在表型上没有明显差异。随后对不同株系进行低温和高盐处理，发现 *EgrNAC*13 在拟南芥中过表达能促进植株对低温和盐胁迫的抗性。−6 ℃ 低温处理 12 h 后的野生型和 EgrNAC13-OE1、EgrNAC13-OE5 两个过表达株系均出现了不同程度的损伤。转入正常生长条件下恢复 5 d 后，发现转基因株系的恢复速度比野生型快（图 3A）。恢复 12 d 后，统计过表达株系和野生型存活率发现，野生型植株因受冻害而死亡的植株要显著高于 *EgrNAC*13 过表达株系。其中 EgrNAC13-OE1 和 EgrNAC13-OE5 株系的存活率分别为 81.6% 和 85.1%，而野生型的存活率仅为 32.3%（图 3A、B）。这表明拟南芥中过表达 *EgrNAC*13 可以提高植株的抗寒性。

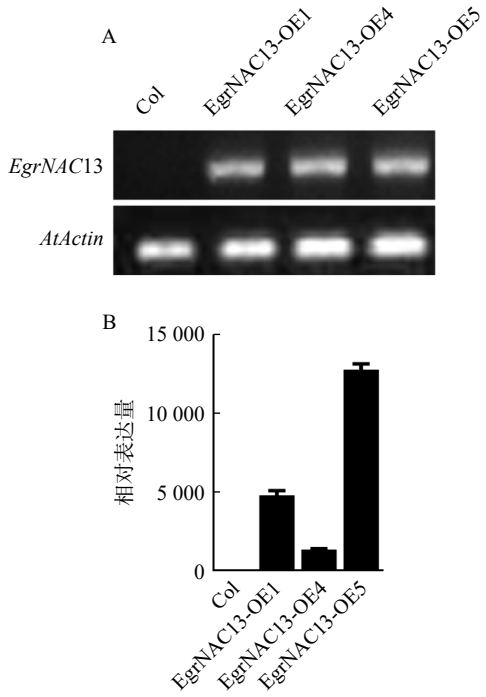
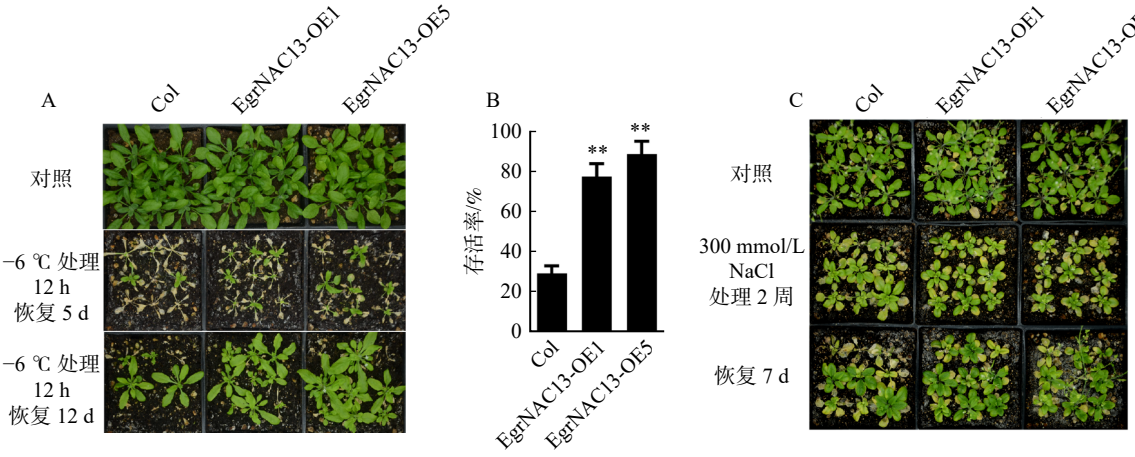


图 2　*EgrNAC*13 拟南芥转基因阳性植株鉴定（A）及其 qRT-PCR 分析（B）

Fig. 2　Molecular identification of *EgrNAC*13 transgenic *Arabidopsis* lines (A) and their expression analysis by qRT-PCR (B)

在 300 mmol/L 的 NaCl 高盐处理下，处理 2 周后，野生型和 2 个 *EgrNAC*13 过表达株系同样都出现了盐害症状，莲座叶黄化，叶边缘枯焦，但它们之间的差异并不明显。但将处理后的植株正常浇水恢复一周后，发现部分野生型植株开始白化死亡，而过表达株系没有植株死亡的现象，且植株长势也开始恢复（图 3C）。这表明 *EgrNAC*13 过表达对植物的高



B 图为 −6 ℃ 处理 12 h 恢复 12 d 后野生型和过表达株系的存活率。**表示与野生型相比在 $P < 0.01$ 水平上存在显著差异。下同。

图 3　野生型和转基因株系低温处理的表型（A）与存活率（B）以及 NaCl 处理下的表型（C）

Fig. 3　Phenotypes (A), survival rates (B) of wild type and *EgrNAC*13 overexpression lines following low temperature treatment, and phenotypes under NaCl treatment (C)

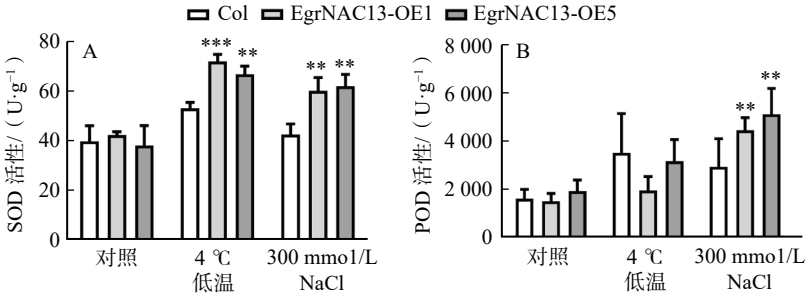
盐耐受性提高也有促进作用。

2.4 不同处理下野生型和 *EgrNAC*13 过表达株系 POD、SOD 的测定

低温、高盐等非生物逆境胁迫下，植物中的抗氧化酶 POD、SOD 的活性变化对植物的逆境响应非常重要。为了进一步在生理层面上解析 *EgrNAC*13 过表达提高转基因株系抗低温和耐盐的原因，对正常、4 ℃ 低温和高盐处理下野生型和过表达株系的 SOD 和 POD 的活性进行了测定。正常条件下，*EgrNAC*13 过表达株系 EgrNAC13-OE1、EgrNAC13-OE5 与野生型 Col 之间的 POD、SOD 活性无显著差异。低温和高盐处理后，各株系的 POD、SOD 活性均较正常条件下有明显升高，这是植物逆境胁迫下维持氧化−还原稳态的应激反应。但是，4 ℃ 低温处理后 2 个转基因株系中 SOD 较野生型也显著升高，EgrNAC13-OE1、EgrNAC13-OE5 过表达株系中 SOD 活性分别为野生型的 1.35 和 1.26 倍；300 mmol/L 盐处理 5 d 后，过表达株系中 SOD 的活性同样显著高于野生型，分别为野生型的 1.41 和 1.46 倍（图 4A）。而 4 ℃ 低温处理下，过表达株系中的 POD 活性相对于野生型没有显著的差异；但盐胁迫对过表达株系中 POD 的活性的诱导却显著高于野生型（图 4B）。这说明 *EgrNAC*13 的过表达可以通过激活 POD 或 SOD 等抗氧化酶的活性，提高植株逆境胁迫下活性氧的清除能力，进而增强植株的抗逆性。

2.5 *EgrNAC*13 过表达株系响应低温逆境相关基因的表达分析

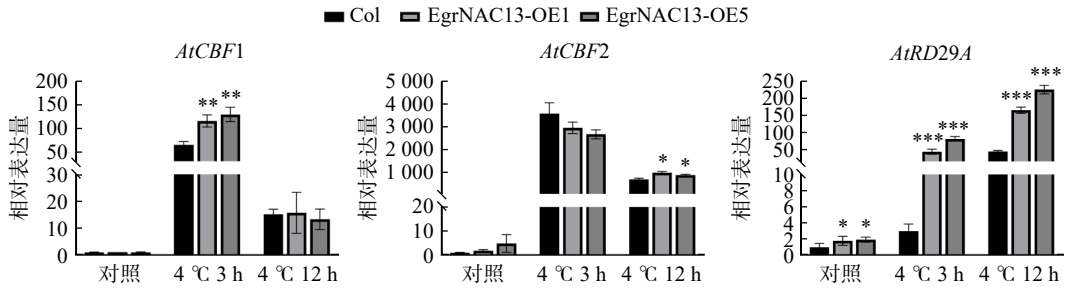
鉴于 *EgrNAC*13 的 2 个过表达株系对低温有较强的抗性，对拟南芥中低温响应途径中的关键基因 *AtCBF*1、*AtCBF*2 和 *AtRD*29*A* 进行了野生型和过表达株系低温处理下的表达分析。结果（图 5）表明：*AtCBF*1 和 *AtCBF*2 在正常温度处理下，野生型和过表达株系中的表达量没有显著差异；而 4 ℃ 低温处理 3 h 后，3 种类型植株中 *AtCBF*1 和 *AtCBF*2 均被显著诱导，符合这两个基因的低温响应特性。同时，过表达株系中的 *AtCBF*1 表达量也都显著高于野生型，而 *AtCBF*2 在过表达株系和野生型中的表达仍没有显著差异。有意思的是，低温处理 12 h，*AtCBF*1 在野生型和过表达株系中的表达水平均出现回落。*AtCBF*1 在过表达株系相对于野生型的高表达现象也消失。而 *AtCBF*2 此时在过表达株系中的表达水平却开始显著高于野生型（图 5）。这暗示随低温处理时间的不同，*EgrNAC*13 对不同 *CBF* 基因的调控也有差异，体现了 *EgrNAC*13 对下游抗逆基因精确的协同调控能力。另外，对于另一个在植物低温、高盐等非生物逆境中发挥重要功能的 *AtRD*29*A*，无论是正常条件还是低温处理条件，过表达株系中



***表示与野生型相比在 $P < 0.001$ 水平上存在显著差异。下同。

图 4 正常、低温处理和 NaCl 处理下野生型和 *EgrNAC*13 过表达株系的 SOD（A）、POD（B）活性分析

Fig. 4 Analysis of SOD (A) and POD (B) activities in wild type and *EgrNAC*13 overexpression lines under normal conditions, low temperature and 300 mmol/L NaCl treatment



*表示与野生型相比在 $P < 0.05$ 水平上存在显著差异。

图 5 4 ℃ 低温处理不同时间野生型和 *EgrNAC*13 过表达株系中胁迫基因的表达分析

Fig. 5 Expression analysis of stress genes in wild-type and E*grNAC*13 overexpression lines treated with 4 ℃ low temperature for different time

*AtRD*29*A* 的表达水平均显著高于野生型。而且低温处理下，*AtRD*29*A* 在过表达株系中的诱导程度更为强烈，低温处理 3 h，*AtRD*29A 在 EgrNAC13-OE1 和 EgrNAC13-OE5 中的表达量分别为野生型的 14.51 和 27.19 倍；低温处理 12 h 后，该基因在过表达株系中的表达水平进一步升高，同时仍显著高于野生型（图 5）。这些结果都说明 *EgrNAC*13 可能通过对 CBF 途径基因以及 *AtRD*29*A* 表达水平的调控正向促进了转基因植株的耐低温能力。

3　讨　　论

NAC 类蛋白作为植物特有的第 4 大转录因子家族，它们的结构非常相似，都含有 N 端保守的 NAC 结构域，以及在 C 端的高度变异转录调节区域[25]。NAC 类基因家族成员众多，根据其进化关系，大致可分为 18 个亚家族[9]。按照其是否参与植物的逆境响应，又将其分为 SNAC 和非 SNAC 两大类。SNAC 类主要由 NAP、AtNAC3、ATAF 和 OsNAC3 亚家族组成[13, 26]。EgrNAC13 与拟南芥中属于 ATAF 亚家族的 ATAF2 亲缘关系最近，同样为典型的 SNAC 类型。从不同物种中 EgrNAC13 同源物的进化关系来看，该基因是 SNAC 家族中一个比较古老的成员。其在单、双子叶植物，以及双子叶植物草本和木本植物中序列上都有明确的分化。在桉树所属的桃金娘科植物中序列相似程度均达到了 86% 以上，暗示其大概率参与此科植物共有的生长发育或环境适应相关的调控过程。同时，这些序列在 NAM 结构域上又高度保守，序列相似性达到了 87% 以上，暗示这些蛋白的功能也可能比较保守。而 ATAF 亚家族的基因在植物低温、高盐和干旱等非生物逆境中都发挥了重要作用[27]。*EgrNAC*13 在桉树幼苗叶片中也受到了低温、高盐和干旱的强烈诱导，且其启动子上也含有大量非生物逆境响应相关的顺式作用元件[20]。很多植物中的 NAC 类转录因子与其类似，都受到非生物逆境胁迫因子的诱导[28–29]。因此，*EgrNAC*13 也可能参与了巨桉的非生物逆境响应。

SNAC 类基因广泛参与植物的非生物逆境响应。和 EgrNAC13 同属于 ATAF 亚家族的 ATAF1 和 ATAF2，均通过调控 ABA 等激素途径参与植物的非生物逆境响应[20]；FvNAC29 也为该亚家族的成员，其在拟南芥中过表达可以显著提高转基因植株对低温和盐胁迫的抗性[30]。杨树（*Populus davidiana* × *P. bolleana*）的 *PbNAC*1 则可以通过调控 ROS 积累、木质素合成等相关基因的表达提高其过表达转基因植株的抗盐性[31]。*EgrNAC*13 的功能与其类似，其过表达株系对低温和高盐耐受性也都有一定程度的提高，尤其是对较低温度的抵抗能力有显著增强，表明该基因可以正向调控植物对低温和盐胁迫的耐受性。

NAC 蛋白还可以通过提高植物细胞中 ROS 捕获的能力，降低非生物逆境对植株的伤害。如鹰嘴豆（*Cicer arietinum*）的 *CaNAC*67 显著抑制其转基因拟南芥株系中 ROS 的积累，而提高植株对干旱的抗性[32]。细叶百合（*Lilium pumilum*）的 *LpNAC*6 也通过提高过表达烟草中 ROS 的捕获能力，提高植株的耐盐性[33]。本研究中，*EgrNAC*13 转基因过表达植株在低温和高盐处理下，SOD 活性均显著高于野生型，过表达植株的 POD 活性在盐胁迫下也显著高于野生型。这说明 *EgrNAC*13 同样能通过调控细胞中与 ROS 捕获相关的抗氧化酶活性，参与植物的非生物逆境响应。但不同的逆境条件下，其所调控的 ROS 捕获路径可能存在差异。

其他研究也证明 SNAC 类转录因子在植物低温响应中发挥重要的作用，但其调控的低温响应分子机制存在差异。沙冬青（*Ammopiptanthus mongolicus*）中 *AmNAC*24 在拟南芥中过表达，主要通过稳定过表达植株的氧化−还原稳态提高植株的抗寒性[34]。火龙果（*Hylocereus undatus*）中的 *HuNAC*20 和 *HuNAC*25 能增强拟南芥转基因植株中冷响应基因如 *AtRD*29*A*、*AtCOR*15*A* 等的表达，提高植株抗寒性[35]。苹果（*Malus domestica*）中的 *MdNAC*104 则可以通过 CBF 依赖和 CBF 非依赖两条途径调节植株的低温抗性[36]。本研究中，在 *EgrNAC*13 转基因株系中，*AtCBF*1 在低温处理 3 h 时，表达量相对于野生型显著升高；而 *AtCBF*2 在低温处理 12 h 较野生型表达量升高，暗示不同低温处理时间下 *EgrNAC*13 对不同 *CBF* 基因的调控模式不同。另外，正常和低温处理的不同时间点，CBF 的下游靶基因 *AtRD*29*A* 在过表达株系中的表达量均显著高于野生型，推测 *EgrNAC*13 可能主要通过依赖 CBF 的途径调控转基因株系的低温胁迫响应，但也可能存在其他独立 CBF 而参与 *AtRD*29*A* 逆境响应的调控途径。总之，在进化上属于 SNAC 类型的 *EgrNAC*13 在其过表达的拟南芥植株低温和高盐逆境响应中是一个正调控因子。研究结果丰富了桉树的抗逆基因资源，并为将来桉树抗低温、耐盐等的分子辅助育种提供了理论依据。但其在桉树中逆境胁迫响应中的功能和调控机制，仍需进一步的深入研究加以证实。

4　结　　论

本研究针对桉树生产中容易遭受低温等逆境胁迫而造成重大损失的产业痛点，结合桉树抗逆分子育种中对抗逆基因资源需求的迫切性，在逆境响应

相关 NAC 类转录因子基因筛选的基础上，利用异源转化的方法开展了低温、高盐等非生物胁迫下 *EgrNAC*13 功能的初步研究。研究得到以下结论。

（1）不同物种的 EgrNAC13 同源蛋白中，在进化上存在单、双子叶植物，以及草本和木本植物之间的分化，但其 NAM 结构域高度保守。

（2）*EgrNAC*13 过表达转基因拟南芥株系表现出明显的低温和高盐抗性，尤其是−6 ℃ 低温处理后，EgrNAC13-OE1 和 EgrNAC13-OE5 的存活率显著高于野生型。

（3）*EgrNAC*13 通过提高植株的抗氧化酶活性，并可能主要依赖 CBF 途径，调控逆境抗性关键基因的表达，进而增强植株对低温、高盐等逆境的抗性。

参 考 文 献

[1] 王笑, 蔡剑, 周琴, 等. 非生物逆境锻炼提高作物耐逆性的生理机制研究进展 [J]. 中国农业科学, 2021, 54(11): 2287−2301.
Wang X, Cai J, Zhou Q, et al. Physiological mechanisms of abiotic stress priming induced the crops stress tolerance: a review [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2021, 54(11): 2287−2301.

[2] 郭仰东, 张磊, 李双桃, 等. 蔬菜作物应答非生物逆境胁迫的分子生物学研究进展 [J]. 中国农业科学, 2018, 51(6): 1167−1181.
Guo Y D, Zhang L, Li S T, et al. Progresses in research on molecular biology of abiotic stress responses in vegetable crops [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(6): 1167−1181.

[3] Jiang Z, van Zanten M, Sasidhara N R. Mechanisms of plant acclimation to multiple abiotic stresses [J]. Communications Biology, 2025, 8(1): 655.

[4] 朱健康, 倪建平. 植物非生物胁迫信号转导及应答 [J]. 中国稻米, 2016, 22(6): 52−60.
Zhu J K, Ni J P. Abiotic stress signaling and responses in plants [J]. China Rice, 2016, 22(6): 52−60.

[5] Prusty A, PanchaL A, Singh R K, et al. Major transcription factor families at the nexus of regulating abiotic stress response in millets: a comprehensive review [J]. Planta, 2024, 259(5): 118.

[6] 张成良, 赵鑫, 王福森, 等. 山新杨 *PdaGLK*1 基因在盐胁迫响应中的功能研究 [J]. 北京林业大学学报, 2025, 47(7): 11−20.
Zhang C L, Zhao X, Wang F S, et al. Functional study of *PdaGLK*1 gene in salt stress response of *Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(7): 11−20.

[7] Chen Y, Xia P. NAC transcription factors as biological macromolecules responded to abiotic stress: s comprehensive review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 308: 142400.

[8] 谢望, 李天静, 李鑫窈, 等. 胡杨 *PeNAC*121 基因启动子的分离鉴定和胁迫应答模式分析 [J]. 植物研究, 2022, 42(2): 234−242.
Xie W, Li T J, Li X Y, et al. Identification of PeNAC121 gene promoter and stress response pattern analysis in *Populus euphratica* [J]. Bulletin of Botanical Research, 2022, 42(2): 234−242.

[9] Ooka H, Satoh K, Doi K, et al. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana* [J]. DNA Rresearch, 2003, 10(6): 239−247.

[10] Meng L, Chen S Y, Li D W, et al. Genome-wide characterization and evolutionary expansion of poplar NAC transcription factors and their tissue-specific expression profiles under drought [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(1): 253.

[11] Xiong H Y, He H D, Chang Y, et al. Multiple roles of NAC transcription factors in plant development and stress responses [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2025, 67(3): 510−538.

[12] Zheng C J, Yang Q, Wang X, et al. Transcription factors involved in plant stress and growth and development: NAC [J]. Agronomy-Basel, 2025, 15(4): 949.

[13] 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-Basel, 2024, 14(3): 535.

[14] Li X Y, Li L, Liu X, et al. Analysis of physiological characteristics of abscisic acid sensitivity and salt resistance in *Arabidopsis* ANAC mutants (anac019, anac072 and anac055) [J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2012, 26(3): 2966−2970.

[15] Alshareef N O, Otterbach S L, Allu A D, et al. NAC transcription factors ATAF1 and ANAC055 affect the heat stress response in *Arabidopsis* [J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 11264.

[16] Huang L, Hong Y B, Zhang H J, et al. Rice NAC transcription factor ONAC095 plays opposite roles in drought and cold stress tolerance [J]. BMC Plant Biology, 2016, 16.

[17] Zhao Z Y, Shi R, Zhang Y, et al. *Populus euphratica* PeNAC029 suppresses phospholipase D and phosphatidic acid signaling under salt stress [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2026, 231: 110992.

[18] Shi W T, Ye S X, Xin Y T, et al. NAC transcription factor GmNAC035 exerts a positive regulatory role in enhancing salt stress tolerance in plants [J]. Plants-Basel, 2025, 14(9): 1391.

[19] Mao X J, Zheng H S, Luo G H, et al. Climate change favors expansion of three *Eucalyptus species* in China [J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1443134.

[20] 洪家都, 倪晓祥, 俞键烽, 等. 巨桉 SNAC 基因家族的鉴定及其在非生物逆境下的表达分析 [J]. 农业生物技术学报, 2024, 32(1): 115−131.
Hong J D, Ni X X, Yu J F, et al. Identification of the SNAC gene family in *Eucalyptus grandis* and its expression analysis under abiotic stresses [J]. Journal of Agriculture and Biotechnology, 2024, 32(1): 115−131.

[21] Wen D D, Li X M, Hong J D, et al. C-repeat binding factor (CBF) identification and expression pattern to abiotic stress response in *Casuarina equisetifolia* and overexpression of *CeCBF*4 increase stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. Industrial Crops and Products, 2025, 222(Pt 2): 119593.

[22] 高媛, 薛艳红, 刘士平. 植物抗氧化动态平衡研究进展 [J]. 生物资源, 2019, 41(1): 14−21.

Gao Y, Xue Y H, Liu S P. Advances in antioxidative stress metabolism in plants [J]. Biotic Resources, 41(1): 14−21.

[23] 萧浪涛, 王三根, 赵会杰, 等. 植物生理学实验技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
Xiao L T, Wang S G, Zhao H J, et al. Plant physiology experiments [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2025.

[24] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 高等教育出版社, 2000.
Li H S. Principles and techniques of plant physiological and biochemical experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.

[25] Olsen A N, Ernst H A, Leggio L L, et al. NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse [J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(2): 79−87.

[26] Takasaki H, Maruyama K, Takahashi F, et al. SNAC-As, stress-responsive NAC transcription factors, mediate ABA-inducible leaf senescence [J]. Plant Journal, 2015, 84(6): 1114−1123.

[27] Gong L, Zhang H W, Liu X, et al. Ectopic expression of HaNAC1, an ATAF transcription factor from *Haloxylon ammodendron*, improves growth and drought tolerance in transgenic Arabidopsis [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 151: 535−544.

[28] 高文杰, 刘娇, 马祥庆, 等. 杉木 NAC 基因家族基因的鉴定及生物信息学分析 [J]. 中南林业科技大学学报, 2022, 42(2): 108−118.
Gao W J, Liu J, Ma X Q, et al. Identification and bioinformatics analysis of Chinese fir NAC gene family [J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2022, 42(2): 108−118.

[29] 张璋, 王毅, 罗玛妮娅, 等. 牛樟干旱与低温胁迫相关 NAC 转录因子的鉴定及表达分析 [J]. 基因组学与应用生物学, 2022, 41(2): 363−371.
Zhang Z, Wang Y, Luo M, et al. Identification and expression analysis of NAC transcription factors related to drought and low temperature stress in *Cinnamomum kanehirae* [J]. Genomics and Applied Biology, 2022, 41(2): 363−371.

[30] Liang J H, Zheng J, Wu Z, et al. Strawberry FaNAC2 enhances tolerance to abiotic stress by regulating proline metabolism [J]. Plants-Basel, 2020, 9(11): 1417.

[31] Wang L Y, Wen S X, Jiang Q, et al. PdbNAC1 transcription factor confers salt tolerance by regulating stress-response and secondary wall biosynthesis genes in *Populus davidiana* × *P. bolleana* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 323(Pt 1): 147184.

[32] Tran C D, Rahman M M, Chu H D, et al. *CaNAC*67, a stress-responsive NAC transcription factor-encoding gene from chickpea (*Cicer arietinum*), improves drought tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2025, 229 (Pt B): 110449.

[33] 刘彬, 曹尚杰, 王营, 等. 过表达细叶百合 *LpNAC*6 基因增强烟草的耐盐性 [J]. 北京林业大学学报, 2020, 42(4): 69−79.
Liu B, Cao S J, Wang Y, et al. Overexpression of *LpNAC*6 gene in *Lilium pumilum* enhancing salt tolerance in transgenic tobacco [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2020, 42(4): 69−79.

[34] Dorjee T, Cui Y C, Zhang Y X, et al. Characterization of NAC gene family in *Ammopiptanthus mongolicus* and functional analysis of *AmNAC*24, an osmotic and cold-stress-induced NAC gene [J]. Biomolecules, 2024, 14(2): 182.

[35] Hu X L, Xie F F, Liang W W, et al. *HuNAC*20 and *HuNAC*25, two novel NAC genes from pitaya, confer cold tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(4): 2189.

[36] Mei C, Yang J, Mei Q L, et al. MdNAC104 positively regulates apple cold tolerance via CBF-dependent and CBF-independent pathways [J]. Plant Biotechnology Journal, 2023, 21(10): 2057−2073.

（责任编辑　赵田芸
责任编委　卢孟柱）