

NAC 转录因子在水稻抗逆基因工程中的应用进展

段俊枝^{1#} 李莹^{2#} 赵明忠¹ 魏小春¹ 任银铃¹

(¹ 河南省农业科学院, 郑州 450002; ² 河南农业大学学报编辑部, 郑州 450002; 第一作者: junzhi2004@163.com; # 共同第一作者)

摘要: 水稻经常遭遇干旱、高盐、低温、病原菌等逆境胁迫, 影响其生长发育甚至产量。NAC 转录因子是植物特有的、最大的转录因子家族之一, 在水稻生长发育及抵御多种非生物及生物胁迫反应中具有重要的调控作用。本文阐述了水稻 NAC 转录因子的结构、分类及染色体定位, 并阐述了 NAC 转录因子在水稻抗旱、耐盐、耐冷及抗病等抗逆基因工程中应用的研究进展, 为 NAC 转录因子的利用及水稻抗逆遗传改良提供参考。

关键词: 水稻; NAC 转录因子; 抗旱; 耐盐; 耐冷; 抗病; 基因工程

中图分类号: S511 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-8082(2017)06-0037-07

水稻是世界上最重要的粮食作物之一, 为全球半数以上人口提供主粮^[1]。水稻在生长发育过程中, 经常遭遇干旱、高盐、低温、病原菌等各种非生物和生物胁迫, 影响其生长发育甚至产量。随着世界人口急剧增加及环境变化, 提高水稻的抗逆性并保持其产量稳定增加是一项十分紧迫的任务。因此, 水稻抗逆育种研究刻不容缓。与传统育种相比, 发掘利用优异的抗逆基因资源, 然后通过基因工程技术提高水稻的抗逆性, 是提高水稻抗逆丰产能力最有效的途径。

当植物遭受干旱、高盐、低温、病原菌等逆境胁迫时, 植物会通过一系列生理、生化、代谢及防御机制来适应和抵御逆境胁迫。其中, 基因表达的转录调控在植物适应环境和抵御逆境胁迫中起重要作用。转录因子是一类调节基因表达水平的重要调控基因, 通过与靶标基因启动子区的顺式作用元件结合, 激活或抑制靶标基因的转录表达。植物中存在大量的逆境胁迫应答转录因子, 如 MYB、bZIP (basic region/leucine zipper motif)、DREB (dehydration-responsive element binding protein)、NAC [NAM (No apical meristem)、ATAF1 (*Arabidopsis* transcription activation factor 1)、ATAF2, CUC2 (cup-shaped cotyledon 2)] 等。其中, NAC 转录因子是最大的植物特异转录因子家族之一, 水稻中含有 151 个 NAC 转录因子^[2]; 其具有多种生物学功能, 不仅参与植物生长发育的调控^[3-6], 而且还参与植物对干旱、高盐、低温等非生物和病原菌侵染等生物胁迫的抗逆反应^[7-10]。目前, 已经从水稻中分离获得了许多 NAC 转录因子, 有的 NAC 转录因子可以提高水稻的单一抗逆性, 有的可以提高水稻的综合抗逆性, 有的可以提高营养生长期(多为苗期)水稻的抗逆性, 有的不仅可以提高

营养生长期抗逆性还可以提高生殖生长期(多为抽穗前后)的抗旱性并改良产量性状, 这为水稻抗逆遗传改良提供了重要的基因资源, 尤其是后者。本文阐述了水稻 NAC 转录因子的结构、分类及染色体定位, 并阐述了 NAC 转录因子在水稻抗旱、耐盐、耐冷及抗病等抗逆基因工程中应用的研究进展, 以期为 NAC 转录因子的利用及水稻抗逆遗传改良提供参考。

1 水稻 NAC 转录因子家族成员结构、分类及染色体定位

NAC 是矮牵牛 NAM、拟南芥 ATAF1/2 和 CUC2 首字母的缩写。水稻 NAC 转录因子的 N 端高度保守, 由约 160 个氨基酸组成^[2], 被称为 NAC 结构域, 负责与 DNA 和其他蛋白结合^[11-12]。NAC 结构域可分为 A、B、C、D、E 5 个亚结构域, 其中, A、C、D 亚结构域高度保守, C、D 亚结构域中含有核定位信号, 主要与 DNA 结合, 从而决定 NAC 转录因子的特性; 而 B、E 亚结构域的保守性不强, 与 NAC 转录因子的功能多样性有关^[11-12]。NAC 转录因子的 C 端是具有高度多样性的转录调控区域, 具有转录激活或转录抑制活性^[11-13]。

水稻 NAC 转录因子家族包含 151 个 NAC 基因, 主要分为 A、B 两组^[2]。其中, A 组包含 65 个 NAC 基因, 主要分为 NAC4、ONAC5、ONAC2、ONAC3、ONAC7、ONAC1、ONAC6 等 7 个亚组, 分别含有 14、3、16、17、5、

收稿日期: 2017-07-22

基金项目: 河南省农业科学院高层次人才科研启动经费 (豫财教 [2013]232 号 2060503); 河南省重大科技专项 (151100110400)

8、2 个 NAC 基因; B 组包含 86 个 NAC 基因, 主要分为 SNAC (stress-responsive NAC)、ANAC34、NEO、SND、NAC22、NAC1、NAM/CUC3、OMNAC (*Oryza membrane NAC*)、TIP (turnip crinkle virus interacting protein) 等 9 个亚组, 分别含有 14、13、2、14、5、6、17、1、14 个 NAC 基因。各亚组均是根据所包含的已知 NAC 基因命名。

在水稻的 151 个 NAC 基因中, 有 135 个可以定位到 12 条染色体上, 其在 12 条染色体上的分布不均匀, 且可分布在染色体的各个位置(长臂、短臂、着丝粒附近)^[2]。其中, 3 号染色体分布最多(17 个), 其次是 1 号染色体(15 个), 2、7、11 号染色体上均分布有 13 个 NAC 基因, 8、10、12 号染色体上均分布有 11 个 NAC 基因, 4、5、6、9 号染色体上分布的 NAC 基因数目均少于 10 个。另外, 有的 NAC 基因成簇分布, 有的单个分布。在 12 条染色体上共发生了 9 个片段重复事件, 涉及 18 个 NAC 基因; 12 个串联重复事件, 涉及 32 个 NAC 基因。

2 NAC 转录因子在水稻抗非生物胁迫基因工程中的应用进展

大部分 NAC 基因的功能鉴定都是在室内(一般为人工气候室或温室)营养生长期(苗期)进行的, 这主要是因为室内条件可控、受外界环境影响较小且苗期鉴定周期短。另外, NAC 家族基因功能各异, 抗非生物胁迫程度各不相同, 在苗期表现出抗非生物胁迫能力, 在生殖生长期尤其是在田间条件下未必能表现出抗非生物胁迫能力, 并最终提高产量, 这主要是由于一方面田间环境条件复杂不好控制, 另一方面大部分 NAC 基因抗非生物胁迫功能不够强大, 单靠 1 个 NAC 基因难以提高生殖生长阶段抗非生物胁迫能力并最终提高产量, 所以将此部分基因归为能够提高营养生长期抗非生物胁迫能力的 NAC 基因。而在生殖生长期尤其是在大田条件下提高抗非生物胁迫能力并提高产量的 NAC 基因很少, 将这部分基因归类为能够提高生殖生长期抗非生物胁迫能力的 NAC 基因, 本文主要指的是能够提高生殖生长期抗旱能力的 NAC 基因。

2.1 提高生殖生长期水稻抗旱能力的 NAC 基因

目前, 只发现了 5 个 NAC 基因不仅可以提高苗期水稻的抗非生物胁迫能力, 还可以提高生殖生长期的抗旱能力, 进而改善产量性状。它们分别是 *SNAC1*^[14]、*OsNAC9*^[15]、*OsNAC10*^[16]、*OsNAC5*^[17]、*OsNAP1*^[18]、*SNAC3*^[19]。其中, *SNAC3* 基因的抗旱性鉴定是通过盆栽试验进行

的, 其余 4 个基因的抗旱性鉴定均是在田间条件下进行的。

研究^[14-15]表明, *SNAC1* 基因和后来发现的 *OsNAC9* 基因是同一个基因, 其受干旱、高盐、脱落酸(ABA)诱导表达, 且主要在叶片保卫细胞中表达。目前, 关于过量表达该基因能否提高转基因水稻抗旱性的报道结果不太一致。Hu 等^[14] 研究发现, 使用组成型启动子(*CaMV 35S*)驱动该基因在水稻(Nipponbar, 日本晴)中过量表达, 提高了转基因植株对 ABA 的敏感性, 并使叶片气孔关闭数增多, 蒸腾速率降低, 但光合速率无明显变化。苗期, 转基因植株表现出相对较高的抗旱、耐盐性; 开花期, 在田间分别进行中度、重度干旱处理, 转基因后代的结实率分别比阴性或非转基因植株(NT)、野生型植株(WT)提高了 17.4%~22.3%、23.0%~34.6%。而 Redillas 等^[15] 研究发现, 使用根特异启动子(*RCc3*)驱动该基因在水稻(日本晴)中过量表达, 改变了转基因植株的根系结构, 使根粗较 NT 增加了 30%; 增强了大田条件下转基因植株的抗旱性, 使结实率较 NT 提高了 18%~36%, 籽粒产量提高了 28%~72%。但值得注意的是, 使用组成型启动子(*GOS2*)驱动该基因在水稻中过量表达, 仅仅使转基因植株根粗增加了 7%, 远远低于 *RCc3:OsNAC9* 转基因植株根粗增加的效果, 最终在田间干旱条件下未能提高转基因植株产量。进一步对根系中基因的表达谱进行分析发现, 与 *GOS2:OsNAC9* 转基因植株相比, 在 *RCc3:OsNAC9* 转基因植株根系中有一些特异上调表达的基因, 例如参与木质素合成的 O-甲基转移酶基因等, 可能就是因为这些基因的上调表达改变了 *GOS2:OsNAC9* 转基因植株的根系结构, 从而提高了转基因植株的抗旱性。同时也说明, 改良根系结构对于提高植物抗旱性具有重要的作用。另外, 在小麦^[20]、棉花^[21]、苧麻^[22]中过量表达该基因也提高了苗期转基因植株的抗旱、耐盐性。

OsNAC10 基因受干旱、高盐、ABA 诱导表达, 分别使用组成型启动子(*GOS2*)和根特异启动子(*RCc3*)驱动该基因在水稻(日本晴)中过量表达。苗期, 均提高了转基因植株的抗旱、耐盐、耐冷性。生殖生长期(抽穗前 10 d 至抽穗后 10 d), 在田间进行干旱处理, *RCc3:OsNAC10* 转基因植株根粗增加, 是 NT 和 *GOS2:OsNAC10* 转基因植株的 1.25 倍, 这主要归因于表皮、皮层和中柱的增大, 且实粒数提高 26%~47%, 籽粒产量提高 25%~42%; 而 *GOS2:OsNAC10* 转基因植株的根粗及产量并未提高^[16]。再次说明, 增加根粗可以提高植

株的抗旱性,甚至产量,对于植物抗旱性改良和育种具有重要的作用。

OsNAC5 基因受干旱、低温、高盐、ABA 及茉莉酸甲酯(MeJA)诱导表达,可以与 *OsNAC6*、*SNAC1* 基因互作,且和 *OsNAC6* 基因均可与 *LEA3*(late embryogenesis abundant, group 3)基因启动子区结合^[23]。分别使用根特异启动子(*RCc3*)、组成型启动子(*GOS2*)驱动该基因在水稻(日本晴)中过量表达;苗期,均提高了转基因植株的抗旱、耐盐性;生殖生长期(抽穗前 10 d 至抽穗后 10 d),在田间干旱条件下,仅 *RCc3:OsNAC5* 转基因植株籽粒产量较 NT 提高 22%~63%(2009-2011 年),*GOS2:OsNAC5* 转基因植株产量较 NT 低(2009 年)或者与 NT 相近(2010-2011 年)^[17]。进一步分析发现,与 NT 相比,*RCc3:OsNAC5* 和 *GOS2:OsNAC5* 转基因植株根粗均增加,但 *RCc3:OsNAC5* 转基因植株根粗增加幅度更大,其根粗显著大于 NT(30%)和 *GOS2:OsNAC5* 转基因植株,这主要归因于根系后生木质部和通气组织增大,皮层细胞数目增多。基因表达谱分析显示,与 *GOS2:OsNAC5* 转基因植株相比,*RCc3:OsNAC5* 转基因植株中存在一些特异上调表达的基因,例如类胡萝卜素合成基因 *GLPs*、吡哆醇生物合成蛋白基因 *PDX*、细胞壁调节酶基因 *MER15*、O-甲基转移酶基因等,这些基因均参与根的生长发育,可能就是因为这些基因的上调表达改变了 *RCc3:OsNAC5* 转基因植株的根系结构,增加了根粗,从而提高了转基因植株的抗旱性^[17]。这再次说明,根粗对提高植物抗旱性具有重要作用。

水稻 *OsNAP* 基因受干旱、高盐、低温、ABA 诱导表达,在水稻(日本晴)中过量表达该基因降低了转基因植株的失水速率,提高了转基因植株幼苗的抗旱、耐盐和耐冷性;且盆栽试验发现,在开花期进行干旱处理,转基因植株的小花育性(63.8%~65.9%)较 WT(46.5%)提高,进而相对产量(63.1%~66.4%)较 WT(52.2%)提高(正常条件下,转基因植株产量与 WT 相近)^[18]。对基因表达谱进行分析发现,在转基因植株中,与抗旱相关的 PP2C(phosphatase 2C)家族基因 *OsPP2C06/OsABI2*、*OsPP2C09*、*OsPP2C68*、AP2 (APETELA2) 结构域基因 *OsAP37*、*OsAP59*,与耐盐相关的基因 *OsSalT*(salt tolerance),与耐冷相关的基因 *OsDREB1A* 等的表达量均上调^[18]。

SNAC3 基因受干旱、高盐、高温、ABA 及氧化胁迫诱导表达,在水稻(中花 11)中组成型过量表达该基因,苗期,提高了转基因植株对干旱、高温的耐受性;孕

穗期,在田间干旱条件下,显著提高了转基因植株的结实率^[19]。进一步分析发现,转基因植株的 H_2O_2 和丙二醛(MDA)含量较 WT 降低,且活性氧(ROS)清除相关基因的表达式上调,尤其是 ROS 清除相关酶基因 *OsCA-TA*(catalase A)、*OsAPX8*(ascorbate peroxidase 8)、*OsRboh F*(NADPH oxidases F)等^[19],说明转 *SNAC3* 基因植株抗逆性的提高主要得益于 *SNAC3* 基因对 ROS 清除能力的提高。

综上,NAC 基因主要通过调控根系生长发育尤其是根粗、气孔关闭、干旱胁迫相关基因的表达量及 ROS 清除能力来调控水稻的抗旱性,进而提高水稻产量。

2.2 提高营养生长期水稻抗非生物胁迫能力的 NAC 基因

大部分 NAC 基因只能在营养生长期表现出抗非生物胁迫能力,且抗性范围不同,有的只能提高单一抗逆性,这部分 NAC 基因较少;有的能够提高综合抗逆性,这部分 NAC 基因较多,所涉及的非生物胁迫主要包括干旱、高盐、低温等。

目前,发现的可以提高水稻单一抗逆性的 NAC 基因较少,这些基因主要表现为抗旱、耐盐。例如:水稻 *OsNAC52* 基因,在拟南芥(哥伦比亚生态型)中过量表达该基因,提高了转基因植株对 ABA 的敏感性,降低了叶片失水速率,提高了叶片含水量,并使 *RD29B*(responsive to dehydration 29B)、*KIN1* (cold induced 1)基因表达量提高,进而提高了转基因植株的抗旱性^[24]。水稻 *ONAC063* 基因受高盐、渗透胁迫诱导表达,在拟南芥(哥伦比亚生态型)中过量表达该基因可以提高转基因植株对高盐和渗透胁迫的耐受能力;基因表达谱分析发现,转基因植株中盐胁迫诱导表达基因 *AMY1*(α -amylase 1)等的表达量提高^[25],推测转 *ONAC063* 基因拟南芥耐盐性的提高可能归因于这些盐胁迫诱导表达基因表达量的提高。Sakuraba 等^[26]研究发现,与 WT(日本晴)比较,水稻 *OsNAC106* 基因缺失突变体的耐盐性提高,说明 *OsNAC106* 基因负调控水稻的耐盐性,可以通过基因敲除的方法提高水稻的耐盐性。另外,研究^[27]发现,水稻类 NAC 转录因子 *BET1* (BORON EXCESS TOLERANT 1)基因负调控水稻对硼毒的耐受性,采用 RNA 干扰技术在水稻(日本晴)中沉默该基因表达后,转基因植株对硼毒的耐受性提高。

大部分 NAC 基因可同时被干旱、高盐两种逆境或干旱、高盐、低温三种逆境胁迫诱导表达,且许多被证实能同时提高水稻的抗旱、耐盐性,但是能同时提高水

稻的抗旱、耐盐、耐冷性的非常少。水稻 *OsNAC6* 基因受干旱、高盐、低温、ABA、JA、机械损伤和稻瘟病诱导表达,在水稻(日本晴)中组成型过量表达 *OsNAC6* 基因能够提高转基因植株的抗旱、耐盐及抗稻瘟病能力,但是与 WT 相比,正常条件下,转基因植株生长缓慢且产量降低;用胁迫诱导启动子(*OsNAC6* 基因启动子)驱动 *OsNAC6* 基因在水稻(日本晴)中过量表达,与 WT 相比,正常条件下,转基因植株生长正常,产量也与 WT 无显著差异;基因表达谱分析表明,*OsNAC6* 基因可使许多胁迫相关基因表达上调,如过氧化物酶基因等,转录激活试验进一步证明其可激活过氧化物酶基因^[28]。类似地,水稻 *ONAC045* 基因受干旱、高盐、低温、ABA 诱导表达,在水稻(日本晴)中过量表达该基因,转基因植株在干旱、高盐胁迫条件下的存活率分别较 WT 提高 1.0 倍、2.8 倍;进一步分析发现,转基因植株中 *OsLEA3-1* 及 *OsPM1*(plasma membrane protein 1)基因的表达量提高^[29]。最近研究^[30]发现,水稻 *ONAC022* 基因受干旱、高盐、ABA 诱导表达,在水稻(秀水 134)中过量表达该基因,转基因植株对 ABA 敏感,与 WT 相比,在干旱胁迫下,转基因植株的失水速率、蒸腾速率及张开气孔所占的比例降低,可溶性糖和脯氨酸含量升高,抗旱性提高;在高盐胁迫下,转基因植株的 Na^+ 离子含量降低,耐盐性提高。此外,早稻 *SNAC2* 基因可以同时提高水稻的抗旱、耐盐、耐冷性。*SNAC2* 基因是从粳型早稻 IRA109 中分离获得的胁迫响应基因,可被干旱、高盐、低温、ABA 诱导表达,在水稻(中花 11)中过量表达该基因,提高了转基因植株对 ABA 的敏感性和细胞膜稳定性及抗旱、耐冷、耐盐性,并且在转基因植株中,被 *SNAC2* 激活的胁迫响应基因(过氧化物酶、鸟氨酸转氨酶、钠氢交换蛋白、热激蛋白、GDSL-like 脂肪酶、苯丙氨酸脱氨裂解酶基因)与其他 NAC 基因完全不同^[31]。

3 NAC 转录因子在水稻抗病基因工程中的应用进展

当植物遭受细菌、真菌、病毒及其他病原物侵害时,通常会通过水杨酸(SA)、JA、乙烯(ET)等抗病信号传导途径来激活大批防卫反应基因的协同表达,从而激活植物的抗病防卫反应。近年来,发现大量 NAC 基因受 SA、JA、ET 等激素诱导表达,且已证实部分 NAC 基因与水稻的抗病性有关,主要包括 *OsNAC6*^[28]、*ONAC122*^[32]、*ONAC131*^[32]、*OsNAC4*^[33]、*OsRIM1*(rice dwarf

virus multiplication 1)^[34-35]等。

如前所述,水稻 *OsNAC6* 基因不仅受非生物胁迫(干旱、高盐、低温)诱导表达,还受机械损伤和稻瘟病诱导表达,在水稻(日本晴)中过量表达该基因,能够减小转基因植株稻瘟病的病变范围,提高对稻瘟病的耐受性^[28]。类似地,水稻 *OsNAC19* 基因也受稻瘟病诱导表达,同时还受 MeJA、ABA、ET 诱导表达,尤其是 MeJA,表明 *OsNAC19* 基因参与水稻对稻瘟病菌侵染的响应过程,并在 MeJA 介导的信号传导途径中发挥重要作用^[36]。最近发现,水稻 *ONAC122* 和 *ONAC131* 基因受稻瘟病及 SA、MeJA、氨基环丙烷羧酸(ET 的前体)诱导表达,将这 2 个基因分别在水稻(IR64)中进行沉默表达后,转基因植株对稻瘟病的敏感性增强^[32]。基因表达谱分析发现,与非沉默植株相比,*NAC122*、*ONAC131* 沉默植株中防御相关基因 *OsLOX*(lipoxygenases)、*Os-PR1a*(pPathogenesis-related proteins 1a)、*OsWRKY45* 及类 NPR1(nonexpresser of PR)基因 *OsNH1* 的表达量均显著降低^[32],推测 *ONAC122*、*ONAC131* 主要通过调控上述基因的表达来调控对稻瘟病的抗性。

在植物与非亲和性病菌互作中,病菌无毒菌株的侵染常常会引起寄主植物侵染位点细胞的快速死亡,形成局部坏死斑,称为过敏反应。目前,已经报道的水稻 NAC 基因中只有 *OsNAC4* 基因与过敏反应有关。研究^[37]表明,褐条病细菌无毒菌株 N1141 接种以及鞭毛素处理能诱导 *OsNAC4* 基因表达,在褐条病菌接种后 6 h,*OsNAC4* 基因表达量升高 30 倍,但是接种不能引起过敏反应的褐条病菌后并不能诱导 *OsNAC4* 基因表达。过量表达 *OsNAC4* 基因的转基因水稻细胞的细胞膜完整性受损、DNA 片段化及典型形态学发生变化,造成细胞过敏性死亡;而将 *OsNAC4* 基因沉默后,在接种褐条病菌无毒菌株 N1141 后,过敏性死亡的水稻细胞数目较空载体对照显著减少^[33]。进一步对 *OsNAC4* 基因在过敏反应中的作用进行分析发现,在没有病菌存在时,*OsNAC4* 蛋白均匀分布在细胞质和细胞核内,但当有病菌侵染时 *OsNAC4* 蛋白在细胞质中迅速积累,随后发生磷酸化修饰并转移到细胞核内;另外,*OsNAC4* 调控参与细胞膜完整性受损的 *HSP90*(heat shock protein 90)基因以及引起 DNA 片段化的 Ca^{2+} 依赖核酸酶基因 *IREN* 等的表达^[33]。

病毒只能在活体植物上引起侵染,并感染植物,扰乱植物细胞的正常代谢活动,引起植物生长发育受阻,出现褪绿、矮化、畸形等症状。NAC 转录因子或感染病

毒复制等过程或与病毒蛋白因子互作从而在病毒病抗性中起作用。水稻 NAC 结构域转录因子 RIM1 控制水稻对矮缩病毒(rice dwarf virus, RDV)的感病性, RIM1 基因功能缺失突变体 *rim1* (WT 为日本晴) 的抗 RDV 性较 WT 增强, 不表现任何病害症状, 且 RDV 病毒粒子量较 WT 显著降低^[34]; 在水稻(日本晴)中过量表达 RIM1 基因, 转基因植株对 RDV 的感病性增强, 病害症状提前, 病毒复制量增加^[35]。因此, RIM1 是一个与 RDV 复制有关的因子, 而且直接参与 JA 信号途径^[34-35]。

4 展望

水稻是我国主要的粮食作物, 稳定提高其产量对国家粮食安全具有十分重要的作用。但是, 水稻在生长发育过程中经常遭受干旱、高盐、低温、病原菌等逆境胁迫, 影响其生长发育甚至产量。因此, 提高水稻抗逆性在保障粮食安全方面具有越来越重要的作用。与传统育种相比, 挖掘抗逆基因, 然后通过基因工程技术提高水稻抗逆性是一条更为有效的途径。

NAC 转录因子是植物特有的转录因子之一, 其家族成员多, 在植物生长发育及抗逆胁迫中具有重要的作用。目前, 已发现 5 个 NAC 基因(*SNAC1/OsNAC9*、*OsNAC10*、*OsNAC5*、*OsNAP*、*SNAC3*) 不仅可以提高苗期转基因水稻的抗逆性, 而且可以提高生殖生长期转基因水稻的抗旱性, 进而提高籽粒产量。其中, *SNAC1/OsNAC9*、*OsNAC10*、*OsNAC5*、*SNAC3* 基因在水稻生殖生长期的抗旱性鉴定是在田间进行的, *OsNAP* 基因在水稻生殖生长期的抗旱性鉴定是通过土壤盆栽试验进行的。这类基因是最具有开发应用价值的基因, 在水稻抗旱性遗传改良育种中具有非常重要的作用, 有望在水稻及其他作物抗旱改良育种中应用。

虽然上述 5 个 NAC 基因均可以提高生殖生长期转基因水稻的抗旱性, 并最终提高产量, 但是大部分 NAC 基因只能提高苗期水稻的抗逆性, 真正能够在生殖生长期提高水稻抗逆性并最终提高产量的并不多, 这一方面是因为目的基因本身功能不够强大, 另一方面是因为抗逆性大部分是由多基因控制的数量性状, 高抗逆性往往需要一系列相关基因的共同表达来实现, 仅仅转单个抗逆基因获得的转基因植株的抗逆性程度有限, 故今后应该进行转化多个抗逆基因的系统研究。目前, 同时转化多个基因的技术还不成熟, 此方面有待进一步深入研究。另外, NAC 基因的抗逆性鉴定大多是在室内、营养生长期(苗期)进行的, 在对产

量影响较大的生殖生长期(抽穗期前后)进行抗逆性鉴定的较少, 进而并不知道目的基因的抗逆程度, 故需要同时进行营养生长期和生殖生长期的抗逆性鉴定, 以便于明确目的基因潜在的应用价值, 获得在逆境条件下既不影响生长发育又能保证产量的转基因抗逆植株。此外, 大部分基因的过量表达都是使用组成型启动子驱动的, 这使得目的基因过量表达的同时, 也会产生一些负面作用, 如植株矮化、开花推迟、发育不良等, 甚至可能会降低产量。因此, 在今后的研究及实际应用中建议使用组织特异启动子(如根特异启动子等)或胁迫诱导启动子来驱动目的基因表达以提高转基因植株的抗逆性, 同时又不会影响其正常生长发育。

综上, 使用组织特异启动子(如根特异启动子等)或胁迫诱导启动子来驱动 *SNAC1/OsNAC9*、*OsNAC10*、*OsNAC5*、*OsNAP*、*SNAC3* 等多个强抗逆基因的共同表达, 有望使作物的抗逆性甚至产量得到提高, 在作物抗逆遗传改良和育种中具有很好的应用前景。

参考文献

- [1] Hadiarto T, Tran L S P. Progress studies of drought-responsive genes in rice[J]. *Plant Cell Rep*, 2011, 30(3): 297-310.
- [2] 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.
- [3] Hao Y J, Wei W, Song Q X, et al. Soybean NAC transcription factors promote abiotic stress tolerance and lateral root formation in transgenic plants[J]. *Plant J*, 2011, 68(2): 302-313.
- [4] Kjaersgaard T, Jensen M K, Christiansen M W, et al. Senescence-associated barley NAC (NAM, ATAF1, 2, CUC) transcription factor interacts with radical-induced cell death 1 through a disordered regulatory domain[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(41): 35 418-35 429.
- [5] Yang S D, Seo P J, Yoon H K, et al. The Arabidopsis NAC transcription factor VNI2 integrates abscisic acid signals into leaf senescence via the COR/RD genes[J]. *Plant Cell*, 2011, 23(6): 2 155-2 168.
- [6] Zhong R, Lee C, Ye Z H. Global analysis of direct targets of secondary wall NAC master switches in Arabidopsis[J]. *Mol Plant*, 2010, 3(6): 1 087-1 103.
- [7] Nakashima K, Takasaki H, Mizoi J, et al. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses [J]. *Biochim Biophys Acta-Gene Regul Mech*, 2012, 1819(2): 97-103.
- [8] Tran L S, Nishiyama R, Yamaguchi-Shinozaki K, et al. Potential utilization of NAC transcription factors to enhance abiotic stress tolerance in plants by biotechnological approach [J]. *GM Crops*, 2010, 1(1): 32-39.
- [9] Xia N, Zhang G, Sun Y F, et al. *TaNAC8*, a novel NAC transcription factor gene in wheat, responds to stripe rust pathogen infection and

- abiotic stresses [J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 2010, 74 (5/6): 394-402.
- [10] Xia N, Zhang G, Liu X Y, et al. Characterization of a novel wheat NAC transcription factor gene involved in defense response against stripe rust pathogen infection and abiotic stresses [J]. *Mol Biol Report*, 2010, 37(8): 3703-3712.
- [11] Duval M, Hsieh T F, Kim S Y, et al. Molecular characterization of AtNAM: a member of the Arabidopsis NAC domain superfamily[J]. *Plant Mol Biol*, 2002, 50(2): 237-248.
- [12] Ooka H, Satoh K, Doi K, et al. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana* [J]. *DNA Res*, 2003, 10(6): 239-247.
- [13] Tran L S, Nakashima K, Sakuma Y, et al. Isolation and functional analysis of Arabidopsis stress inducible NAC transcription factors that bind to a drought responsive cis-element in the early responsive to dehydration stress 1 promoter[J]. *Plant Cell*, 2004, 16(9): 2 481-2 498.
- [14] Hu H, Dai M, Yao J, et al. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(35): 12 987-12 992.
- [15] Redillas C, Jeong J S, Kim Y S, 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.
- [16] Jeong J S, Kim Y S, Baek K H, 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.
- [17] Jeong J S, Kim Y S, Redillas M C, 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.
- [18] Chen X, Wang Y, Lü B, 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.
- [19] Fang Y, Liao K, Du H, 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): 6 803-6 817.
- [20] Saad A S, Li X, Li H P, et al. A rice stress-responsive NAC gene enhances tolerance of transgenic wheat to drought and salt stresses[J]. *Plant Sci*, 2013, 203: 33-40.
- [21] Liu G, Li X, Jin S, 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(1): e86895.
- [22] An X, Liao Y, Zhang J, et al. Overexpression of rice NAC gene *SNAC1* in ramie improves drought and salt tolerance [J]. *Plant Growth Regul*, 2015, 76(2): 211-223.
- [23] Takasaki H, Maruyama K, Kidokoro S, et al. The abiotic stress-responsive NAC-type transcription factor *OsNAC5* regulates stress-inducible genes and stress tolerance in rice[J]. *Mol Genet Genomics*, 2010, 284(3): 173-183.
- [24] Gao F, Xiong A, Peng R, 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.
- [25] Yokotani N, Ichikawa T, Kondou Y, et al. Tolerance to various environmental stresses conferred by the salt-responsive rice gene *ONAC063* in transgenic Arabidopsis [J]. *Planta*, 2009, 229(5): 1 065-1 075.
- [26] Sakuraba Y, Piao W, Lim J H, et al. Rice *ONAC106* inhibits leaf senescence and increases salt tolerance and tiller angle[J]. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56(12): 2 325-2 339.
- [27] Ochiai K, Shimizu A, Okumoto Y, et al. Suppression of a NAC-like transcription factor gene improves boron-toxicity tolerance in rice[J]. *Plant Physiol*, 2011, 156(3): 1 457-1 463.
- [28] Nakashima K, Tran L S, Van Nguyen D, 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.
- [29] Zheng X, Chen B, Lu G, et al. Overexpression of a NAC transcription factor enhances rice drought and salt tolerance [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(4): 985-989.
- [30] Hong Y, Zhang H, Huang L, et al. Overexpression of a stress-responsive NAC transcription factor gene *ONAC022* improves drought and salt tolerance in rice[J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 4.
- [31] Hu H, You J, Fang Y, et al. Characterization of transcription factor gene *SNAC2* conferring cold and salt tolerance in rice [J]. *Plant Mol Biol*, 2008, 67(1/2): 169-181.
- [32] Sun L, Zhang H, Li D, 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.
- [33] Kaneda T, Taga Y, Takai R, et al. The transcription factor *OsNAC4* is a key positive regulator of plant hypersensitive cell death [J]. *EMBO J*, 2009, 28(7): 926-936.
- [34] Yoshii M, Shimizu T, Yamazaki M, et al. Disruption of a novel gene for a NAC-domain protein in rice confers resistance to rice dwarf virus[J]. *Plant J*, 2009, 57(4): 615-625.
- [35] Yoshii M, Yamazaki M, Rakwal R, et al. The NAC transcription factor *RIMI* of rice is a new regulator of jasmonate signaling[J]. *Plant J*, 2010, 61(5): 804-815.
- [36] Lin R M, Zhao W S, Meng X B, et al. Rice gene *OsNAC19* encodes a novel NAC-domain transcription factor and responds to infection by *Magnaporthe grisea*[J]. *Plant Sci*, 2007, 172: 120-130.
- [37] Kaneda T, Fujiwara S, Takai R, et al. Identification of genes involved in induction of plant hypersensitive cell death [J]. *Plant Biotechnol*, 2007, 24(2): 191-200.

(下转第 46 页)

取造成一定影响, 可以使用更高空间分辨率影像或者研究相关的方法解决类似问题。

参考文献

- [1] 王启田, 林祥国, 王志军, 等. 利用面向对象分类方法提取冬小麦种植面积的研究[J]. 测绘科学, 2008, 33(2): 143-146.
- [2] 周春艳, 王萍, 张振勇, 等. 基于面向对象信息提取技术的城市用地分类[J]. 遥感技术与应用, 2008, 23(1): 31-35.
- [3] 王利民, 刘佳, 杨福刚, 等. 基于 GF-1 卫星遥感的冬小麦面积早期识别[J]. 农业工程学报, 2015, 31(11): 194-201.
- [4] 黄振国, 杨君. 高分一号卫星影像监测水稻种植面积研究综述[J]. 湖南农业科学, 2014(13): 76-78.
- [5] 汤传勇, 卢远. 利用面向对象的分类方法提取水稻种植面积[J]. 遥感信息, 2010(1): 53-56.
- [6] 李根, 景元书, 王琳, 等. 基于 MODIS 时序植被指数和线性光谱混合模型的水稻面积提取[J]. 大气科学学报, 2014, 37(1): 119-126.
- [7] 陈燕丽, 莫伟华, 莫建飞, 等. 基于面向对象分类的南方水稻种植面积提取方法[J]. 遥感技术与应用, 2011, 26(4): 163-168.
- [8] 2015 年中国统计年鉴. 农作物播种面积-主要农作物产品产量 [EB/OL]. <http://www.stats.gov.cn/tjsj/ndsj/2015/indexch.htm>.
- [9] 刘珍环, 李正国, 唐鹏钦, 等. 近 30 年中国水稻种植区域与产量时空变化分析[J]. 地理学报, 2013, 68(5): 680-693.
- [10] 李卫国, 蒋楠. 基于面向对象分类的冬小麦种植面积提取[J]. 麦类作物学报, 2012, 32(4): 701-705.
- [11] 中国扬州. 自然地理 [EB/OL]. <http://www.yangzhou.gov.cn/yzgk/lmtt.shtml>.
- [12] 中国资源卫星应用中心. 高分一号 [EB/OL]. <http://www.cresda.com/CN/Satellite/3076.shtml>, 2014-10-15, 2016-03-15.
- [13] 王昌满, 赵俊三. 面向对象的遥感影像水田信息提取方法研究[J]. 价值工程, 2014(5): 206-208.
- [14] 谭衢霖, 刘正军, 沈伟. 一种面向对象的遥感影像多尺度分割方法[J]. 北京交通大学学报, 2007, 31(4): 111-114.

Planting Information Extraction of Rice by Object-oriented Classification Method based on GF-1 Images

LIU Shaogui¹, JI Zhonglin^{2,3}, ZHANG Yueping¹, LI Wenxi¹, GAO Hui^{1,4}, HAHN Tianwen^{1,4}, CHEN Ming¹, YAN Yi^{1,4}, JIANG Yi^{1,4}, WU Bing^{1,4}, GONGXinxin^{1,4}, ZHU Piao^{1,4}, REN hongyan^{3*}

(¹ Yangzhou Station of Farmland Quality Protection, Yangzhou, Jiangsu 225101, China; ² Department of Cartography and Geographical Information System, College of Geographical Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China; ³ State Key Laboratory of Resource and Environmental Information System, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Beijing 100101, China; ⁴ Yangzhou Diheng Technology Co., Ltd, Yangzhou, Jiangsu 225002, China; 1st author: shgl520@163.com; *Corresponding author: renhy@igsrr.ac.cn)

Abstract: Rice planting information extraction by remote sensing is an important part of agricultural remote sensing. GF-1 satellite WVF data provides a new way for agricultural information extraction, object-oriented classification method is an important method of remote sensing interpretation. This research takes Yangzhou as the research area, based on the GF-1 image data, uses the object-oriented classification method, extracts the rice planting information, and carries on the field investigation verification test result. The feasibility of GF-1 data oriented object classification in extracting rice planting information and the factors affecting extraction precision are discussed. The results showed that GF-1 data can be used to extract rice planting information in Yangzhou by object-oriented classification method. Rice planting area was 214 524 hm² in Yangzhou City, the overall accuracy of rice was 98.5%, Kappa coefficient was 0.95, area accuracy was 97.5%. Field investigation can improve the extraction accuracy. The degree of terrain fragmentation affects the extraction accuracy, with the decrease of terrain fragmentation, the extraction accuracy is increased.

Key words: GF-1; object-oriented classification; rice; planting information extraction

·····
(上接第 42 页)

Progress on Application of NAC Transcription Factors in Rice Stress Tolerance Genetic Engineering

DUAN Junzhi¹, LI Ying², ZHAO Mingzhong¹, WEI Xiaochun¹, REN Yinling¹

(¹ Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; ² Editorial Department of Journal of Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 1st author: junzhi2004@163.com; *contributed equally author)

Abstract: Rice often encounters drought, high salt, low temperature, pathogen stress, which influences the growth and yield of rice. NAC transcription factors are the plant-specific and one of the largest families, which play an important role in regulation of plant growth and a variety of abiotic and biotic stresses response. This paper systematically and comprehensively elaborated the structure, classification and chromosomal location of NAC transcription factors, reviewed the application of NAC transcription factors in plant drought, salt, cold and disease resistance, so as to provide some references for the utilization of NAC transcription factors and stress tolerance genetic improvement and breeding.

Key words: rice; NAC transcription factors; drought tolerance; salt tolerance; cold tolerance; disease resistance; genetic engineering