

三七 NAC 基因家族全基因组鉴定与表达分析



温 砚¹ 王莹敏² 曾广莹³ 李 详² 龙书生^{1*}

(1. 西北农林科技大学植物保护学院, 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100; 2. 云南农业大学植物保护学院, 云南生物资源保护与利用国家重点实验室, 昆明 650201; 3. 陕西省安康市镇坪县农业科学研究所, 安康 726500)

摘要: 为明确三七 *Panax notoginseng* NAC 转录因子基因家族的分布、功能和结构, 通过生物信息学分析法进行鉴定, 对其理化特性、染色体位置和进化特征进行分析, 并根据 RNA-seq 数据分析其家族成员的时空表达模式和受黑斑病菌 *Alternaria panax* 诱导后的表达情况。结果显示, 三七中共有 98 个 NAC 基因家族成员, 其编码蛋白质长度介于 104~882 个氨基酸之间, 分子量在 11.78~100.20 kD 之间, 等电点在 4.12~9.75 之间。这 98 个 NAC 基因家族不均匀地分布在三七的 12 条染色体上, 其中 1 号染色体分布最多 (16 个), 而 11 号染色体上分布最少 (1 个)。三七 NAC 基因启动子区域存在与光响应、生长素响应、赤霉素响应及茉莉酸甲酯响应等相关的多种顺式作用元件。NAC 基因在三七不同组织及根部不同发育时期均有表达, 在受到黑斑病菌侵染的叶片中 NAC 部分基因家族成员显著上调表达。表明 NAC 基因家族在三七的生长发育和响应黑斑病菌侵染过程中具有重要作用。
关键词: 三七; NAC 基因家族; 黑斑病菌; 表达模式; 生物信息学分析

Genome-wide identification and expression pattern of NAC gene family in medicinal plant *Panax notoginseng*

Wen Yan¹ Wang Yingmin² Zeng Guangying³ Li Xiang² Long Shusheng^{1*}

(1. State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 2. State Key Laboratory of Conservation and Utilization of Biological Resources of Yunnan, College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan Province, China; 3. Institute of Agricultural Sciences of Zhenping, Ankang 726500, Shaanxi Province, China)

Abstract: In order to clarify the distribution, function and structure of medicinal plant *Panax notoginseng* NAC gene family, the members in the family were identified and the physicochemical characteristics, chromosomal location and evolutionary features of the family were analyzed with bioinformatics method, the temporal and spatial expression patterns of the family members and the induced expression of *Alternaria panax* were analyzed based on the RNA-seq data. The results showed that there were 98 members of the NAC gene family in *P. notoginseng*, coding proteins with a length ranging from 104 to 882 amino acids, and molecular weight ranging from 11.78 to 100.20 kD and isoelectric point ranging from 4.12 to 9.75. The 98 NAC genes were unevenly distributed on 12 chromosomes. Chr1 has the most genes (16), while chr11 has the fewest genes (1). Multiple *cis*-acting elements associated with light response, growth hormone response, gibberellin response and methyl jasmonate response are present in the NAC promoter region. NAC genes were expressed in all different tissues and roots of *P. notoginseng* at different developmental stages, while the expression of NAC in *P. notoginseng* leaves also showed significantly increased after infection by *A. panax*. These results suggested that NAC plays an important

基金项目: 陕西省创新能力支撑计划(2020YJZD-003)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: longss@nwfau.edu.cn

收稿日期: 2021-12-12

role in the growth and development of *P. notoginseng* and in its response to the infection by *A. panax*.

Key words: *Panax notoginseng*; NAC gene family; *Alternaria panax*; expression pattern; bioinformatics analysis

三七 *Panax notoginseng* 是我国的名贵中药材, 隶属五加科人参属 *Panax*, 主要分布于云南省文山州和广西壮族自治区百色市 (Briskin, 2000; Ng, 2006)。三七在我国有着悠久的药用历史, 常用于止血、止痛及消肿等, 能够制成不同剂型, 如胶囊、粉剂及注射剂等, 其年产值超过 700 亿元 (崔秀明等, 2014)。然而, 三七在生长过程中会受到白粉病 (陈克克等, 2014)、疫霉病 (杨丽芬等, 2016)、圆斑病 (毛忠顺等, 2017)、黑斑病 (何迟等, 2020) 和根腐病 (李迎宾等, 2020) 等病害胁迫, 严重影响三七的产量和品质, 并造成巨大的经济损失。因此, 探索并鉴定抗病相关基因可为培育三七抗病品种提供新思路。

NAC 转录因子是植物特有的一类转录因子家族, 命名取自于矮牵牛 *Petunia hybrida* 的 *NAM* (no apical meristem) 基因、拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 的 *ATAF1/2* (*Arabidopsis transcription activation factor*) 基因和 *CUC2* (*cup-shaped cotyledon*) 基因的首字母。大量研究表明, NAC 转录因子参与调控植物生长发育、抗逆境胁迫、抗病性及激素信号转导等过程 (Shao et al., 2015; Qu et al., 2016)。NAC 转录因子是植物生长发育过程中的“分子开关”, Evans (2016) 通过基因敲除的方法发现棉花 *Gossypium* 的 NAC 转录因子基因 *GhNAC20* 正向调控叶片的衰老, 过表达 *GhNAC20* 能够有效延缓叶片的衰老。植物在生长过程中经常遭受干旱、高温和低温等环境胁迫, 而 NAC 转录因子在植物响应环境胁迫过程中发挥着重要作用。Mao et al. (2014) 利用转基因技术研究发现小麦 *Triticum aestivum* 的 NAC 转录因子基因 *TaNAC67* 能够正向调控小麦对干旱、低温和高盐胁迫的响应。植物在生长过程中除了非生物胁迫外, 还面临着大量生物胁迫, 包括细菌、真菌、病毒及线虫等病原物胁迫 (卢文洁等, 2019; 韩英鹏等, 2022), 而 NAC 转录因子在植物响应生物胁迫过程中发挥着重要作用。Chen et al. (2016) 发现大麦 *Hordeum vulgare* 的 NAC 转录因子基因 *HvNAC6* 受脱落酸 (abscisic acid, ABA) 的正向调控进而影响大麦对白粉病的抗性。植物在整个生长阶段均受到植物激素的影响, 而 NAC 转录因子可以通过调节 ABA 或赤霉素 (gibberellin, GA) 等植物激素来调控植物的生长发育。Shen et al. (2017) 研究发现, 过表达 NAC 转录因子基因 *OsNAC2* 后水稻 *Oryza sativa* 盐胁迫和干

旱胁迫的抵抗能力降低, 并且在干旱胁迫下水稻产量降低, 通过分析发现 *OsNAC2* 能够直接与蛋白激酶基因 *OsSAPK1* 的启动子结合从而抑制 ABA 信号途径相关基因 *LEA3* 的表达。推测三七 NAC 转录因子家族基因在其生长及抗逆胁迫过程中可能同样具有重要功能。

尽管 NAC 基因家族在包括三七近缘种人参 *Panax ginseng* (Liu Q et al., 2020) 在内的多种植物中已有报道, 但是关于三七 NAC 转录因子基因家族的分布、功能和结构还未见报道。因此, 本研究采用生物信息学分析法鉴定三七中 NAC 转录因子基因家族的成员, 并对其编码蛋白质序列的理化特性、基因的染色体定位、家族成员间的进化关系、在不同组织及根部不同发育时期的表达特性及家族成员响应黑斑病菌侵染时的表达模式进行分析, 以期为进一步研究三七 NAC 基因家族的功能提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试数据: 三七全基因组、蛋白质序列和 GFF3 注释文件来自 Yang et al. (2021) 研究结果; 从 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 的 Sequence Read Archive (SRA) 数据库下载三七不同组织 (3 年生开花期三七的根毛、花、叶、根状茎、根和茎) 样本的转录组原始数据 (SRR7427741)、不同发育时期 (1 年、1/2 年、1/3 年和 2/3 年) 根部样本的转录组原始数据 (SRR9066975) 以及受黑斑病侵染 48 h 的 1/3 年生三七叶片和对照叶片样本的转录组原始数据 (SRR13853792), 用于三七 NAC 基因的表达分析。

1.2 方法

1.2.1 三七 NAC 基因鉴定及编码蛋白理化性质预测

NAC 转录因子家族的 HMM 文件 (PF02365) 下载自 Pfam (<http://pfam.xfam.org/family/>)。利用 HMMER 3.3.1 软件 (Finn et al., 2011) 将三七的蛋白质序列比对到 HMM 文件上, 以 1×10^{-5} 为阈值筛选比对结果。提取筛选后的基因编码的蛋白质序列, 将分布在三七 1~12 号染色体以外的蛋白质序列剔除, 并去除重复序列之后提交到 NCBI CDD 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>) 进行蛋白质结构预测, 确定后将含有 NAC 保守结构域的基因鉴定为三七 NAC 基因家族成员。按照染色体

顺序及在染色体上的分布顺序对基因进行重命名。利用Perl脚本(<https://www.expasy.org/>)对鉴定到的三七NAC基因家族成员基因编码的蛋白质长度、分子量和等电点等进行分析。

1.2.2 三七NAC基因家族的系统进化分析

为验证三七NAC基因家族的系统进化关系,使用Clustal Omega软件(<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo>)(Sievers et al., 2011)对1.2.1获得的所有NAC基因组家族成员编码的全长蛋白质序列进行多序列比对,然后通过FastTree软件采用最大似然法(Price et al., 2010)构建系统发育树,重复检验1 000次,并通过R包ggtree程序对系统发育树进行可视化处理(Yu et al., 2017)。

1.2.3 三七NAC基因家族基因的结构分析

从三七基因组GFF3注释文件中提取三七NAC基因家族成员的注释信息,然后使用R包pac4xiang程序(<https://github.com/lixiang117423/pac4xiang>)对三七NAC基因家族基因的结构进行可视化处理。

1.2.4 三七NAC基因家族蛋白保守基序分析

使用MEME软件(<http://meme-suite.org/tools/meme>)(Bailey et al., 2006)分析三七NAC基因家族蛋白保守基序(Motif),选择anr预测模式,motif个数为10,能识别的最短序列为6,最长序列为100,其余参数均为默认值。将预测所得Motif结果用R包ggmotif程序(<https://cran.r-project.org/web/packages/ggmotif/index.html>)进行提取和可视化处理。

1.2.5 三七NAC基因家族的启动子分析

用NCBI在线软件从三七全基因组序列中提取NAC基因家族成员的启动子上游1 500 bp区域,利用PlantCARE数据库在线程序(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)(Lescote et al., 2002)分析顺式作用元件的种类、数量及功能。

1.2.6 三七NAC基因家族成员的表达模式分析

利用HISAT2软件(Kim et al., 2019)对三七基因组构建索引,然后将三七不同组织、根部不同发育时期及叶片响应黑斑病菌侵染的转录组RNA-Seq数据比对到三七基因组上。将比对后的sam格式文件排序为bam文件,利用HTseq软件(Anders et al., 2015)提取所有三七基因表达量的Counts值,使用R语言处理Counts值,将其转换成FPKM(fragments per kilobase of exon model per million mapped fragments)值后,再将数据进行归一化处理得到标准分数Z-score值(Zhang, 2011),基于Z-score值利用R包heatmap 1.0.12程序绘制三七NAC家族成员在不同组织中、根部不同发育时期及叶片响应黑斑病菌

胁迫过程中表达模式的热图。

2 结果与分析

2.1 三七NAC基因家族的鉴定及编码蛋白理化性质

根据HMMER检索结果,在三七中共鉴定到98个NAC基因家族成员,根据其在染色体上的相对位置重命名为*PnNAC1*~*PnNAC98*。这98个基因不均匀地分布在三七的12条染色体上,且大多分布在染色体的两端,其中,1号染色体上分布有16个NAC基因家族成员,11号染色体上只有1个NAC基因家族成员(图1)。这98个NAC基因家族成员编码的蛋白质长度在104~882个氨基酸之间,分子量在11.78~100.20 kD之间,平均值分别为357个氨基酸和40.70 kD;其中*PnNAC91*编码的蛋白质长度最长,分子量大;*PnNAC44*和*PnNAC88*编码的蛋白质长度最短,分子量分别为11.78 kD和11.97 kD;这98个NAC基因家族成员编码蛋白质的等电点范围在4.12~9.75之间,平均值为6.54,有42个基因的等电点大于7,另外56个基因的等电点小于7。

2.2 三七NAC基因家族的系统进化分析

三七NAC基因家族成员分布在多个亚家族中,且其分布规律呈现出明显的染色体偏好性,基本分布在染色体两端。*PnNAC49*属于5号染色体上的NAC基因家族成员,但是与4号染色体上NAC基因家族成员的亲缘关系更近,有类似关系的基因还有*PnNAC77*和*PnNAC88*;1号染色体上的16个NAC基因家族成员分布在4个不同的分支中,*PnNAC1*单独形成一个独特的分支(图2-A)。大部分NAC基因家族成员都有着完整的NAC结构域,但部分基因出现不同程度的大片段缺失,NAC基因家族成员*PnNAC44*、*PnNAC25*、*PnNAC65*、*PnNAC54*、*PnNAC23*、*PnNAC88*、*PnNAC90*、*PnNAC95*及*PnNAC14*的前端均有不同程度的片段缺失;*PnNAC66*、*PnNAC69*及*PnNAC77*在结构域后端出现大片段缺失(图2-B)。这些结果表明三七NAC基因家族成员具有多样性,在进化过程中有着染色体偏好性,而且部分NAC基因家族基因在进化过程中出现了较大片段的缺失。

2.3 三七NAC基因家族的基因结构分析

基因结果分析结果表明,三七NAC基因家族大多数基因含有内含子,而*PnNAC90*、*PnNAC95*、*PnNAC97*、*PnNAC98*和*PnNAC38*这5个基因无内含子(图3)。序列长度最长的*PnNAC10*基因拥有2个内含子,第1个内含子长达23.8 kb。

2.4 三七NAC基因家族的蛋白保守基序分析

在98个NAC基因家族成员中共检测到10个分

布基本一致的蛋白保守基序 Motif1~Motif10, 其中, Motif3 在 95 个 NAC 基因家族成员编码的蛋白质上都存在, *PnNAC42*、*PnNAC43* 及 *PnNAC92* 编码的蛋白质含有 2 个 Motif3; Motif1 在大部分基因编码蛋

白质上的位置相对固定, 除了 Motif10 以外, 其余 Motif 在某些基因编码的蛋白质上都出现多次, 如 Motif2 在 *PnNAC58* 编码的蛋白质上出现 2 次, Motif8 在 *PnNAC90* 编码的蛋白质上出现 2 次(图 4)。

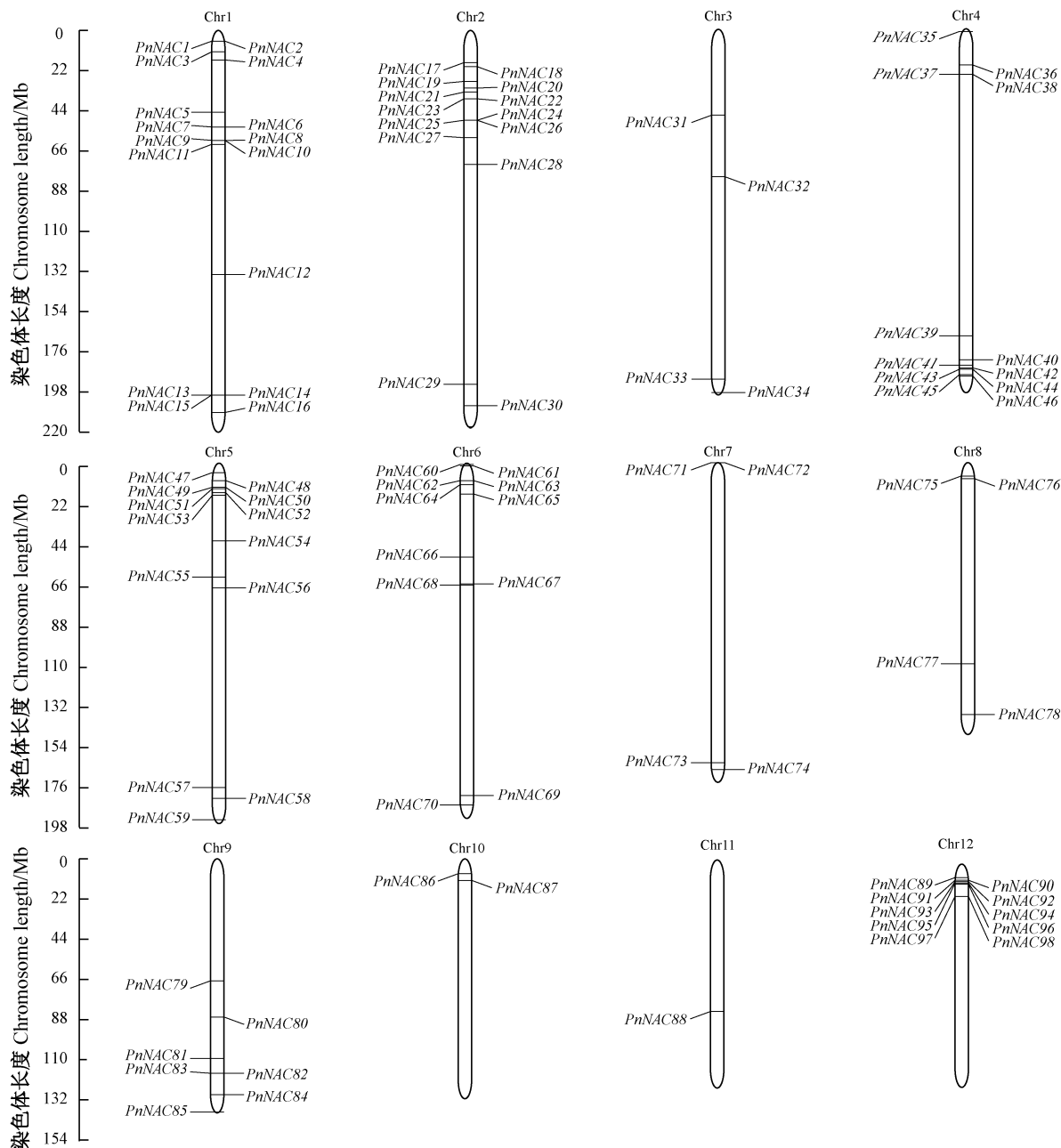


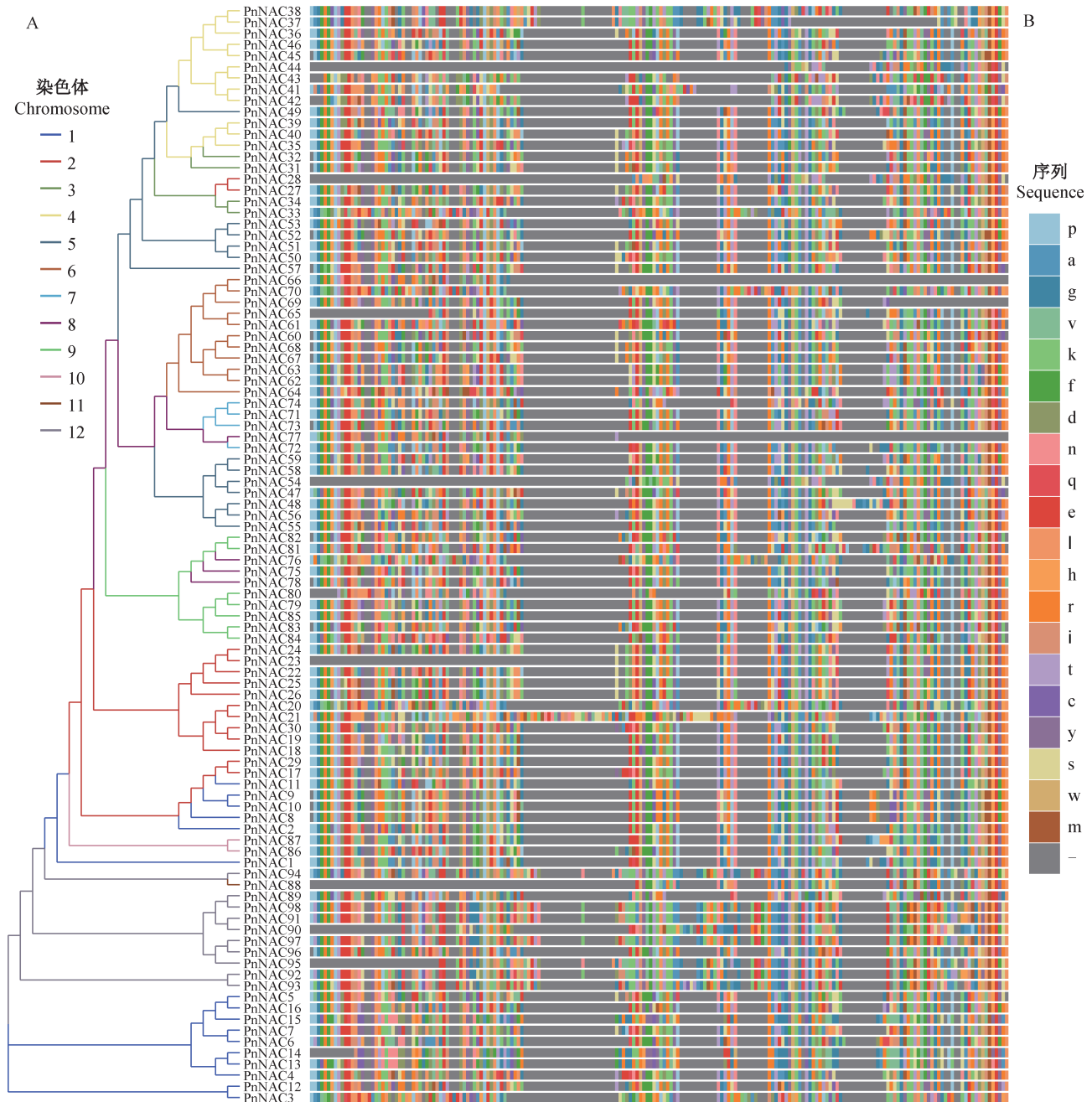
图 1 三七 NAC 基因家族成员的染色体定位

Fig. 1 Chromosome mapping of NAC gene family members in *Panax notoginseng*

2.5 三七 NAC 基因家族启动子顺式作用元件分析

对三七 NAC 基因家族成员翻译起始位点上游 1 500 bp 的序列进行顺式作用元件分析, 共检测到 107 个顺式作用元件, 其与光响应、生长素响应、GA 响应及茉莉酸甲酯响应等过程相关。其中, 与光响应相关的顺式作用元件有 Sp1、GT1-motif、3-AF1 binding site 和 AAAC-motif, 在 61 个 NAC 基因家族

成员中均有分布; 与 GA 响应相关的顺式作用元件有 P-box 和 GARE-motif, 在 33 个 NAC 基因家族成员中均有分布; 与生长素响应相关的顺式作用元件为 TGA-element, 分布在 31 个 NAC 基因家族成员中; 与茉莉酸甲酯响应的顺式作用元件有 CGTCA-motif 和 TGACG-motif, 分布在 67 个 NAC 基因家族成员中。



B图不同颜色表示不同氨基酸。p: 脯氨酸; a: 丙氨酸; g: 甘氨酸; v: 缬氨酸; k: 赖氨酸; f: 苯丙氨酸; d: 天冬氨酸; n: 天冬酰胺; q: 谷氨酰胺; e: 谷氨酸; l: 亮氨酸; h: 组氨酸; r: 精氨酸; i: 异亮氨酸; t: 苏氨酸; c: 半胱氨酸; y: 酪氨酸; s: 丝氨酸; w: 色氨酸; m: 甲硫氨酸; -: 转录终止。Different colors in Fig. B indicate different amino acid sequences. p: Proline; a: alanine; g: glycine; v: valine; k: lysine; f: phenylalanine; d: aspartic acid; n: asparagine; q: glutamine; e: glutamic acid; l: leucine; h: histidine; r: arginine; i: isoleucine; t: threonine; c: cysteine; y: tyrosine; s: serine; w: tryptophan; m: methionine; -: transcription termination.

图2 采用最大似然法构建三七NAC基因家族成员的系统发育树(A)及其多序列比对结果(B)

Fig. 2 Phylogenetic tree of the NAC gene family in *Panax notoginseng* using maximum likelihood method (A) and the results of multiple sequences alignment (B)

2.6 三七NAC基因家族成员的表达模式分析

转录组分析结果表明,三七NAC基因的表达整体上呈现组织特异性,在茎、叶和花中的表达量最高,根系中也有一簇基因呈现出明显的特异性表达(图5-A)。98个NAC家族基因成员在三七不同生

长阶段有着不同的表达模式,在生长1/3年根中最高表达的NAC基因数量最多,有26个(图5-B),表明三七NAC家族基因成员的表达具有明显的时空特异性,推测在三七整个生长过程中均发挥着重要作用。三七受到黑斑病菌侵染后,叶片中部分NAC基

因的表达量显著上调(图 5-C),说明三七 NAC 基因

家族基因在响应病原菌侵染过程中发挥着重要作用。

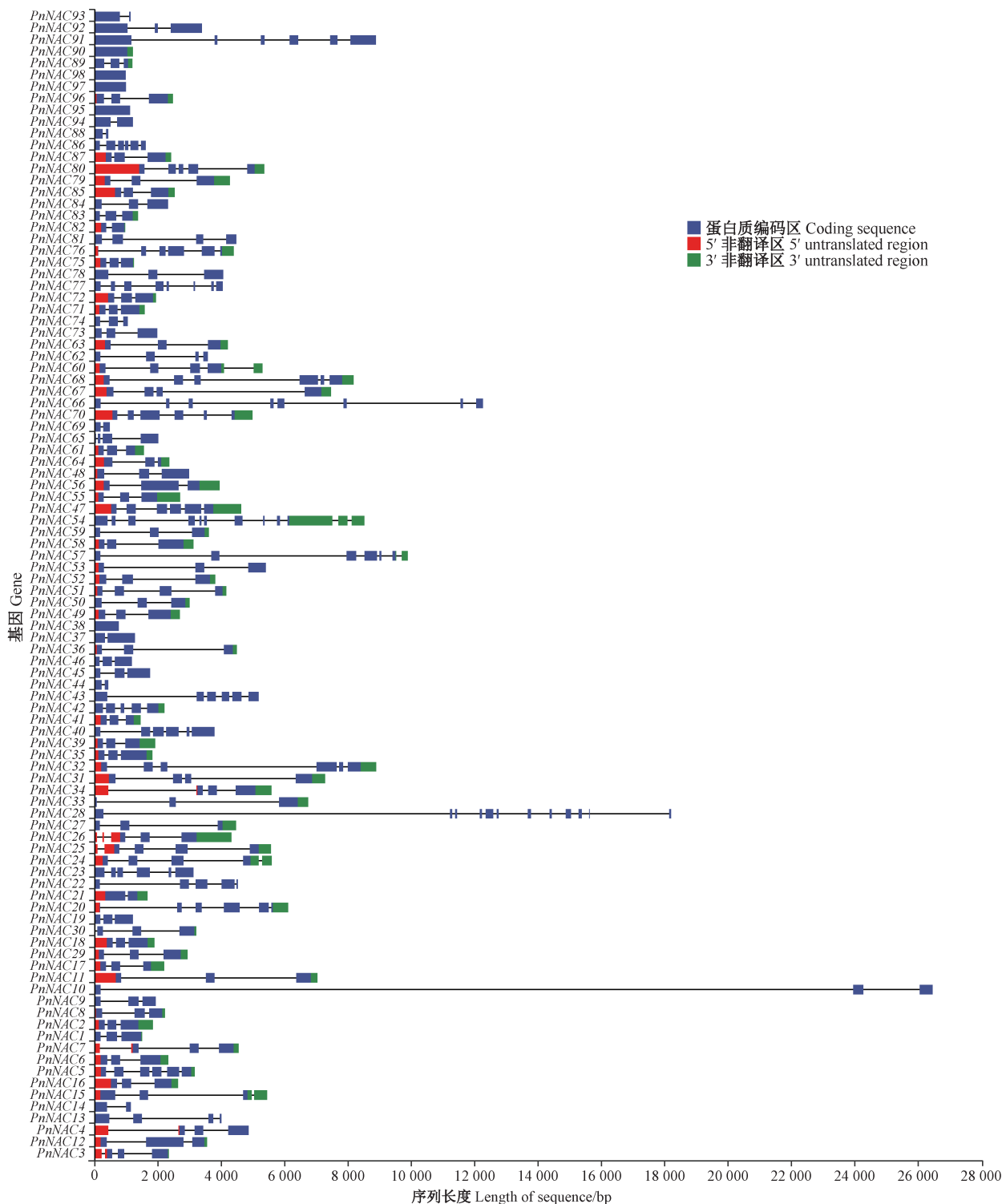


图3 三七NAC基因家族成员的基因结构

Fig. 3 Structures of NAC gene family members in *Panax notoginseng*

3 讨论

NAC 转录因子是植物中最大的基因家族之一,在调控植物生长发育(Puranik et al., 2012)、响应环境(生物)胁迫(Shao et al., 2015)和激素信号转导(王

春雨和张茜, 2018)等方面发挥着重要作用。不同物种中NAC转录因子的数量不同, Hisako et al. (2003)在水稻中鉴定到75个NAC基因家族基因, 少于本研究从三七中鉴定到的98个NAC基因家族成员数量; Liu Q et al. (2020)在三七近缘种人参中鉴定到

89 个 NAC 基因家族基因,与三七 NAC 基因家族基因数量相近。而在拟南芥中鉴定出 105 个(Ooka et al.,2003)、在大豆 *Glycine max* 中鉴定出 101 个(Pinheiro et al.,2009)、在小麦中鉴定出 453 个(Borrill et al.,2017)NAC 基因家族成员基因,均多于本研究在

三七中鉴定到的 NAC 基因家族成员数量。本研究发现三七 NAC 转录因子基因家族成员间没有串联重复的发生,与 Liu Q et al.(2020)的研究结果一致。推测这可能是导致三七和人参 NAC 基因家族基因数量明显少于其他物种的潜在原因。

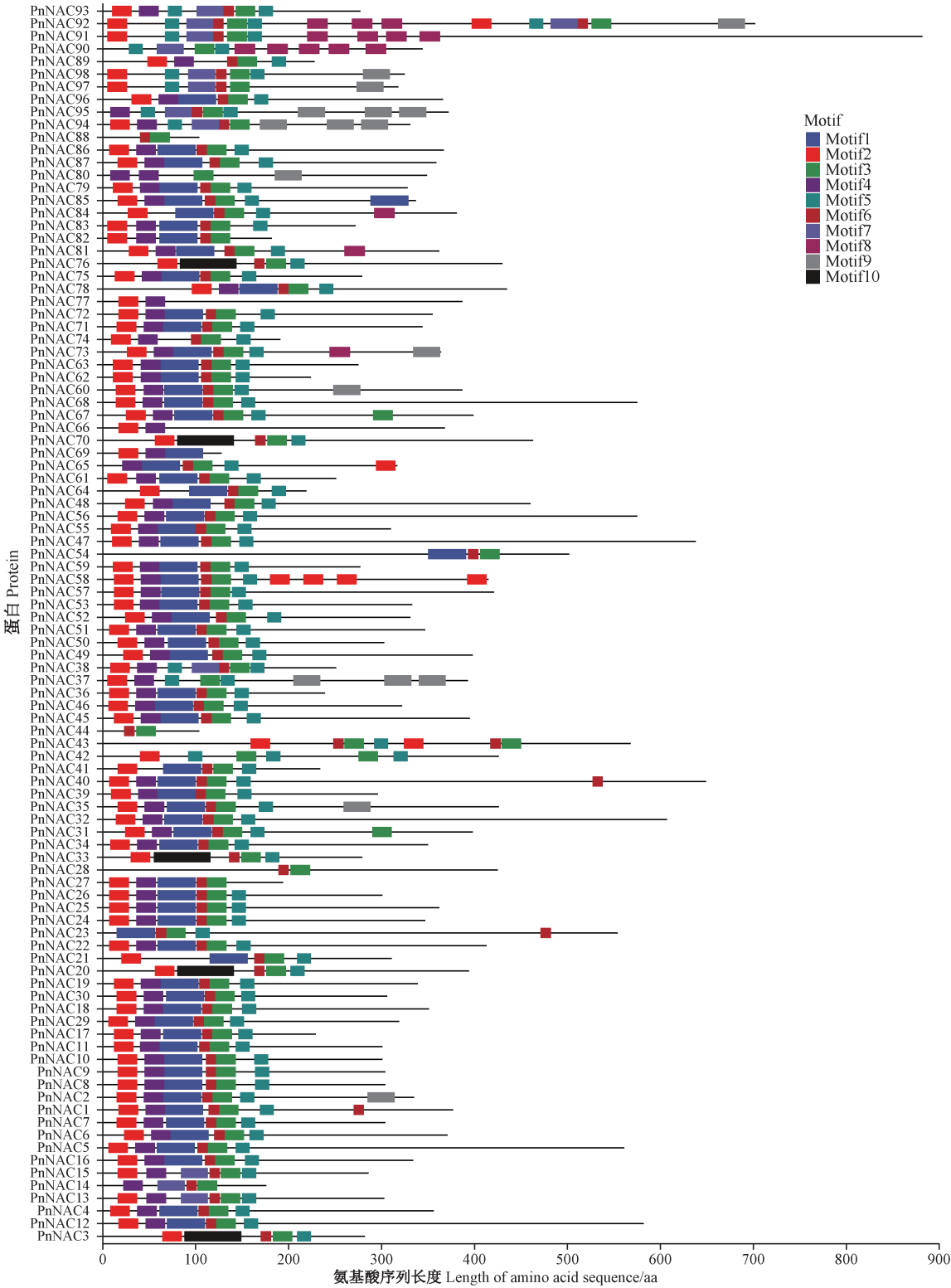
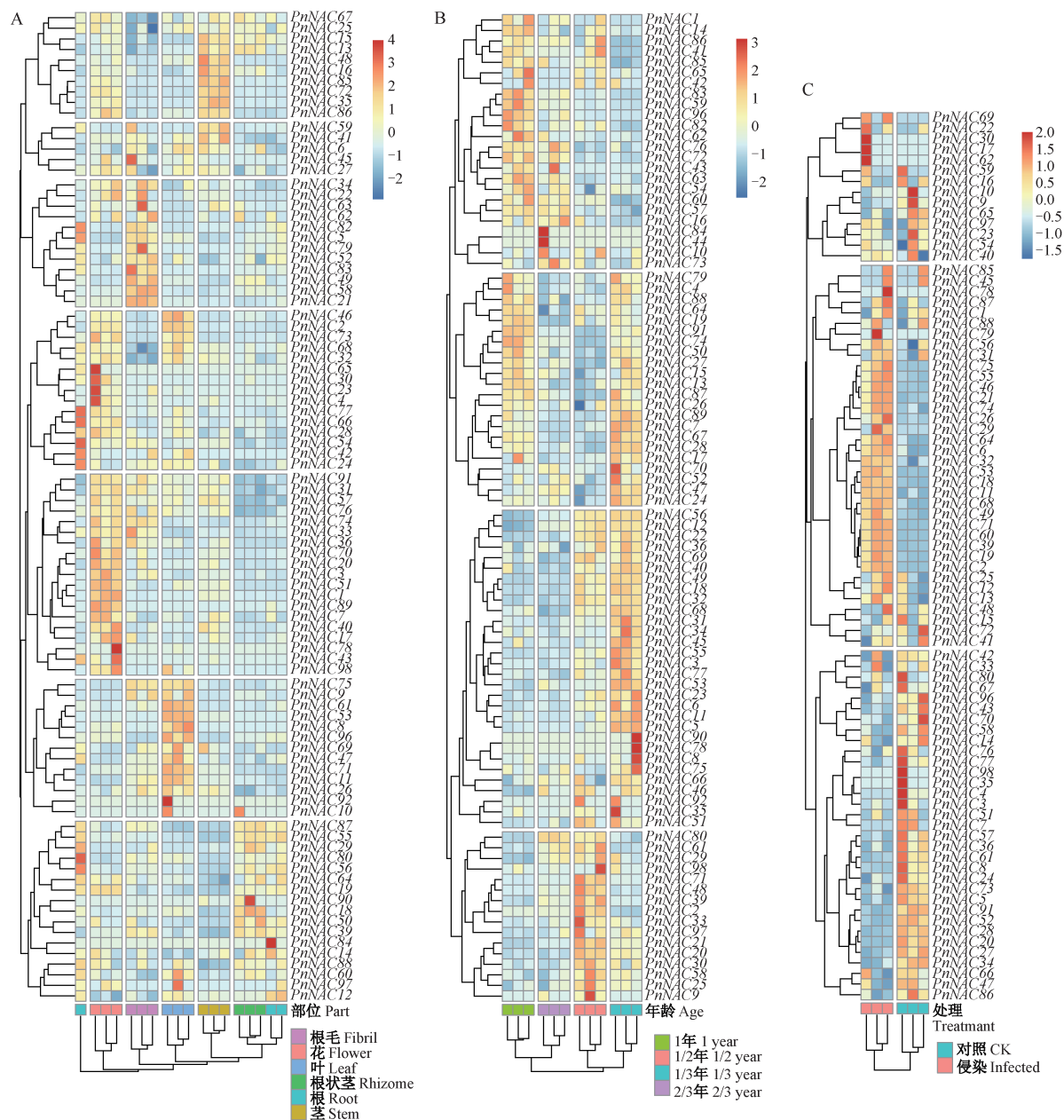


图4 三七 NAC 基因家族成员编码蛋白质的保守基序 Motif 分析
Fig. 4 Motif analysis of NAC gene family members in *Panax notoginseng*



最底部的聚类颜色表示不同的处理,热图内的颜色代表不同的 Z-score 值。A: 使用 3 年生开花期三七不同组织样本; B: 使用三七不同生长阶段的根部材料; C: 使用受黑斑病菌感染 48 h 的 1/3 年生三七叶片。The cluster colors at the bottom represent different treatments, and the colors in the heat map represent Z-score. A: The triennial anthracite *P. notoginseng* samples; B: the root material of *P. notoginseng* at different growth stages; C: the 1/3 year old *P. notoginseng* leaves infected with *A. panax* for 48 h.

图 5 NAC 基因家族成员在三七不同组织(A)、不同生长阶段(B)及响应黑斑病菌胁迫过程中(C)的表达模式

Fig. 5 Expression patterns of *Panax notoginseng* NAC gene family members in different tissues (A), at different stages (B) and in response to *Alternaria panax* infection (C)

三七 NAC 基因家族 98 个成员不均匀地分布在 12 条染色体上,其中,11 号染色体上分布的 NAC 基因数量最少,只有 1 个成员,占总基因数的 1.02%;1 号染色体上分布的 NAC 基因数量最多,有 16 个成员,占总基因数的 16.3%,说明各染色体上的 NAC 基因数量可能与染色体大小有关。在系统发育上,三七 NAC 基因家族成员具有染色体偏好性,基本分

布在染色体两端,而与陈国户等(2022)在白菜 *Brassica rapa* NAC 家族基因的研究中发现其成员均匀分布在染色体上的结果不同,这可能是由不同物种间的进化差异所导致。蛋白保守基序分析结果表明,三七 NAC 转录因子基序结构与其分布高度相似,N 端结构域非常保守,绝大部分成员 N 端均含有 motif2、motif4、motif7、motif6 和 motif3,与已被研究

的其他物种NAC转录因子相似,其在N端的结构域均非常保守(Ooka et al., 2003; 高文杰等, 2022)。

基因启动子区域的顺式作用元件影响着植物的生长发育和对胁迫的响应。三七NAC转录因子基因家族的启动子区域富含大量与激素响应和光响应相关的顺式作用元件。三七作为喜阴植物(匡双便等, 2015; Zhang et al., 2021), 其NAC基因家族成员启动子区域对光照的响应与三七生长发育及响应生物及非生物胁迫息息相关。本研究发现的三七NAC基因家族成员启动子区域上的光响应相关顺式作用元件很可能在三七对不同光照环境的响应中发挥着重要作用, 值得进一步探索研究。

NAC转录因子是一种多功能蛋白质, 在调节植物生长发育、次生代谢及胁迫反应中具有重要的生物学功能, Liu MY et al. (2020)研究发现在藜麦 *Chenopodium quinoa* 和拟南芥中NAC转录因子基因家族通过调节类黄酮途径促进植物抵抗外界胁迫; Xie et al. (2020)研究结果表明拟南芥中NAC1能介导生长素信号通路并促进侧根发育; 水稻中NAC5被证明是一种与衰老相关的ABA依赖性转录因子, 此外, 铁、锌和氨基酸在从绿色组织向种子转运时也需要该转录因子参与(Sperotto et al., 2009)。本研究利用转录组数据分析发现在三七不同组织及不同发育时期根部的NAC转录因子基因家族成员都呈现出明显的特征表达模式; 且在受到黑斑病菌侵染后, 其部分NAC基因的表达量显著上调, 表明NAC转录因子基因家族在植物的生长发育和抗逆胁迫等方面发挥着重要功能。关于NAC转录因子家族基因对三七生长特性的影响, 本研究未使用实时荧光定量PCR进行验证, 后续应该使用实时荧光定量PCR进一步验证其表达模式, 并对三七NAC转录因子家族基因的功能进行更深入的挖掘研究。

参 考 文 献 (References)

- Anders S, Pyl PT, Huber W. 2014. HTSeq: a *Python* framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics*, 31(2): 166–169
- Bailey TL, Williams N, Misleh C, Li WW. 2006. MEME: discovering and analyzing DNA and protein sequence motifs. *Nucleic Acids Research*, 34(S2): 369–373
- Borrill P, Harrington SA, Uauy C. 2017. Genome-wide sequence and expression analysis of the NAC transcription factor family in polyploid wheat. *G3*, 7(9): 3019–3029
- Briskin DP. 2000. Medicinal plants and phytomedicines: linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant Physiology*, 124(2): 507–514
- Chen GH, Pang XK, Li G, Wang H, Wu SW, Wen HW, Yin Q, Yuan LY, Hou JF, Tang XY, et al. 2022. Genome-wide identification of NAC gene family in *Brassica rapa* and its expression analysis of response to vernalization. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 45(4): 656–665 (in Chinese) [陈国户, 庞小可, 李广, 王浩, 吴思文, 温宏伟, 尹倩, 袁凌云, 侯金锋, 唐小燕, 等. 2022. 白菜NAC基因家族全基因组鉴定及其应答春化反应的表达分析. *南京农业大学学报*, 45(4): 656–665]
- Chen KK, Weng F, Qiang Y. 2014. Control effects of two pesticides on powdery mildew of *Sedum aizoon*. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*, 60(11): 24–25 (in Chinese) [陈克克, 翁芳, 强毅. 2014. 2种药剂对景天三七白粉病防治效果的影响. *陕西农业科学*, 60(11): 24–25]
- Chen N, Wu SH, Fu JL, Cao BH, Lei JJ, Chen CM, Jiang J. 2016. Overexpression of the eggplant (*Solanum melongena*) NAC family transcription factor SmNAC suppresses resistance to bacterial wilt. *Scientific Reports*, 6: 31568
- Cui XM, Huang LQ, Guo LP, Liu DH. 2014. Chinese sanqi industry status and development countermeasures. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 39(4): 553–557 (in Chinese) [崔秀明, 黄璐琦, 郭兰萍, 刘大会. 2014. 中国三七产业现状及发展对策. *中国中药杂志*, 39(4): 553–557]
- Evans O. 2016. Functional analysis of *GhNAC18* and *GhNAC20* during leaf senescence and stress responses in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Master thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences
- Finn RD, Clements J, Eddy SR. 2011. HMMER web server: interactive sequence similarity searching. *Nucleic Acids Research*, 39(W): 29–37
- Gao WJ, Liu J, Ma XQ, Shuai P. 2022. Identification and bioinformatics analysis of Chinese fir NAC gene family. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 42(2): 108–118 (in Chinese) [高文杰, 刘娇, 马祥庆, 帅鹏. 2022. 杉木NAC基因家族基因的鉴定及生物信息学分析. *中南林业科技大学学报*, 42(2): 108–118]
- Han YP, Li Y, Wu T, Xu AT, Bai RY, Bu FS, Jiang HP. 2022. Bioinformatics analysis of G2-like transcription factors related to soybean cyst nematode. *Journal of Northeast Agricultural University*, 53(3): 1–9 (in Chinese) [韩英鹏, 李一, 吴桐, 徐爱佟, 白芮瑶, 卜凡珊, 姜海鹏. 2022. 大豆胞囊线虫相关G2-like转录因子生物信息学分析. *东北农业大学学报*, 53(3): 1–9]
- He C, Wang HL, Jin X, Jin BH, Su S, Duan YN, He XH. 2020. Identification of *Alternaria* species associated with black spot disease on *Panax notoginseng* in Yunnan and Guangxi. *Acta Phytopathologica Sinica*, 50(2): 246–250 (in Chinese) [何迟, 王慧玲, 金鑫, 靳百慧, 栗珊, 段亚男, 何霞红. 2020. 云南、广西三七黑斑病病原链格孢菌的鉴定. *植物病理学报*, 50(2): 246–250]
- Hisako O, Satoh K, Doi K, Nagata T, Otomo Y, Murakami K, Matsubara K, Osato N, Kawai J, Carninci P, et al. 2003. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, 51(6): 239–247
- Kim D, Paggi JM, Park C, Bennett C, Salzberg SL. 2019. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. *Nature Biotechnology*, 37(8): 907–915
- Kuang SB, Xu XZ, Meng ZG, Zhang GH, Yang SC, Chen ZJ, Wei FG,

- Chen JW. 2015. Effects of light transmittance on plant growth and root ginsenoside content of *Panax notoginseng*. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 21(2): 279–286 (in Chinese) [匡双便, 徐祥增, 孟珍贵, 张广辉, 杨生超, 陈中坚, 魏富刚, 陈军文. 2015. 不同透光率对三七生长特征及根皂苷含量的影响. 应用与环境生物学报, 21(2): 279–286]
- Lescot M, Déhais P, Thijs G, Marchal K, Moreau Y, van de Peer Y, Rouzé P, Rombauts S. 2002. PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. Nucleic Acids Research, 30(1): 325–327
- Li YB, Liu YX, Zhu SS, Luo LX, Li JQ. 2020. Grading system for *Panax notoginseng* root rot disease. Acta Phytopathologica Sinica, 50(4): 450–461 (in Chinese) [李迎宾, 刘屹湘, 朱书生, 罗来鑫, 李健强. 2020. 三七根腐病田间分级标准研究及评价. 植物病理学报, 50(4): 450–461]
- Liu MY, Sun WJ, Ma ZT, Yu GL, Li JH, Wang YD, Wang X. 2020. Comprehensive multiomics analysis reveals key roles of NACs in plant growth and development and its environmental adaption mechanism by regulating metabolite pathways. Genomics, 112(6): 4897–4911
- Liu Q, Sun C, Han J, Li L, Wang K, Wang Y, Chen J, Zhao M, Wang Y, Zhang M. 2020. Identification, characterization and functional differentiation of the NAC gene family and its roles in response to cold stress in ginseng, *Panax ginseng* C. A. Meyer. PLoS ONE, 15(6): e0234423
- Lu WJ, Luo ZM, Li CH, Yin GF, Wang YQ, Wang LH. 2019. Identification and biological characteristics of the pathogen causing leaf blight of *Fagopyrum esculentum* in Yunnan Province. Journal of Plant Protection, 46(5): 1065–1072 (in Chinese) [卢文洁, 罗志明, 李春花, 尹桂芳, 王艳青, 王莉花. 2019. 云南省荞麦叶枯病病原菌鉴定及其生物学特性. 植物保护学报, 46(5): 1065–1072]
- Mao XG, Chen SS, Li A, Zhai CC, Jing RL. 2014. Novel NAC transcription factor TaNAC67 confers enhanced multi-abiotic stress tolerances in *Arabidopsis*. PLoS ONE, 9(1): e84359
- Mao ZS, Wei FG, Chen ZJ, Yang JZ, Wang BY, Wang Y. 2017. Field investigation of round spot on sanqi (*Panax notoginseng*) in Yunnan Province. Journal of Wenshan University, 30(3): 1–5 (in Chinese) [毛忠顺, 魏富刚, 陈中坚, 杨建忠, 王炳艳, 王勇. 2017. 云南省三七圆斑病发生情况调查. 文山学院学报, 30(3): 1–5]
- Ng TB. 2006. Pharmacological activity of sanchi ginseng (*Panax notoginseng*). Journal of Pharmacy and Pharmacology, 58(8): 1007–1019
- Ooka H, Satoh K, Doi K, Nagata T, Otomo Y, Murakami K, Matsubara K, Osato N, Jun KW, Carninci P, et al. 2003. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*. DNA Research, 10(6): 239–247
- Pinheiro GL, Marques CS, Costa MDBL, Reis PAB, Alves MS, Carvalho CM, Fietto LG, Fontes EPB. 2009. Complete inventory of soybean NAC transcription factors: sequence conservation and expression analysis uncover their distinct roles in stress response. Gene, 444(1/2): 10–23
- Price MN, Dehal PS, Arkin AP. 2010. FastTree 2: approximately maximum-likelihood trees for large alignments. PLoS ONE, 5(3): e9490
- Puranik S, Sahu PP, Srivastava PS, Prasad M. 2012. NAC proteins: regulation and role in stress tolerance. Trends in Plant Science, 17(6): 369–381
- Qu YT, Duan M, Zhang ZQ, Dong JL, Wang T. 2016. Overexpression of the *Medicago falcata* NAC transcription factor *MfNAC3* enhances cold tolerance in *Medicago truncatula*. Environmental and Experimental Botany, 129: 67–76
- Shao H, Wang H, Tang X. 2015. NAC transcription factors in plant multiple abiotic stress responses: progress and prospects. Frontiers in Plant Science, 6: 902
- Shen JB, Lv B, Luo LQ, He JM, Mao CJ, Xi DD, Ming F. 2017. The NAC-type transcription factor OsNAC2 regulates ABA-dependent genes and abiotic stress tolerance in rice. Scientific Reports, 7: 40641
- Sievers F, Wilm A, Dineen D, Gibson TJ, Karplus K, Li WZ, Lopez R, McWilliam H, Remmert M, Söding J, et al. 2011. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. Molecular Systems Biology, 7: 539
- Sperotto RA, Ricachenevsky FK, Duarte GL, Boff T, Lopes KL, Sperb ER, Grusak MA, Fett JP. 2009. Identification of up-regulated genes in flag leaves during rice grain filling and characterization of OsNAC5, a new ABA-dependent transcription factor. Planta, 230(5): 985–1002
- Wang CY, Zhang Q. 2018. Research progress on plant NAC transcription factors. Biotechnology Bulletin, 34(11): 8–14 (in Chinese) [王春雨, 张茜. 2018. 植物NAC转录因子功能研究进展. 生物技术通报, 34(11): 8–14]
- Xie Q, Frugis G, Colgan D, Chua NH. 2000. *Arabidopsis* NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development. Genes & Development, 14(23): 3024–3036
- Yang LF, Yang J, Gao LL, Guo JW, Hong L, Cheng JS, Kong Q, Tian XJ. 2016. Screening and preliminarily identification of rhizosphere soil bacterial controlling *Phytophthora cactorum* of *Panax notoginseng*. Journal of Honghe University, 14(2): 24–26, 36 (in Chinese) [杨丽芬, 杨建, 高玲玲, 郭建伟, 洪亮, 程加省, 孔琼, 田学军. 2016. 三七疫霉病拮抗根际土壤细菌的筛选及初步鉴定. 红河学院学报, 14(2): 24–26, 36]
- Yang Z, Liu G, Zhang G, Yan J, Dong Y, Lu Y, Fan W, Hao B, Lin Y, Li Y, et al. 2021. The chromosome-scale high-quality genome assembly of *Panax notoginseng* provides insight into dencichine biosynthesis. Plant Biotechnology Journal, 19(5): 869–871
- Yu GC, Smith DK, Zhu HC, Guan Y, Lam TTY. 2017. Ggtree: an R package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. Methods in Ecology and Evolution, 8(1): 28–36
- Zhang JY, Zhang QH, Shuang SP, Cun Z, Wu HM, Chen JW. 2021. The responses of light reaction of photosynthesis to dynamic sunflecks in a typically shade-tolerant species *Panax notoginseng*. Frontiers in Plant Science, 12: 718981
- Zhang XD. 2011. Illustration of SSMD, Z score, SSMD*, Z* score, and *t* statistic for hit selection in RNAi high-throughput screens. Journal of Biomolecular Screening, 16(7): 775–785