

野生二粒小麦 SBE 基因家族鉴定及表达分析

冯政凯, 杨晓莹, 徐晓敏, 黄晨曦, 宋思源, 丁旭, 朱李亚, 熊辉,
陈春环, 赵继新, 王长有, 李停栋, 邓平川, 吉万全

(西北农林科技大学农学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 淀粉分支酶是参与植株淀粉生物合成和代谢的关键酶之一。为了探究野生二粒小麦淀粉分支酶的功能, 利用野生二粒小麦基因组数据, 鉴定到 9 个淀粉分支酶(SBE) 基因, 并对其理化性质、系统发育、顺式作用元件、共线性和表达模式进行了系统分析。结果表明, 9 个 *TdSBEs* 基因编码的蛋白分子量介于 65 518.04~151 934.40 Da, 等电点范围为 5.37~6.64, 亚细胞均定位于叶绿体。经系统进化分析, 9 个 *TdSBEs* 基因可划分为 3 个亚家族(*TdSBE I*、*TdSBE II* 和 *TdSBE III*), 同一亚家族内不同成员间具有高度相似的基因结构和 motif 组成。通过顺式作用元件分析, *TdSBEs* 基因包含植物激素、植物生长发育和非生物胁迫相关的元件, 同时在 *TdSBE2* 亚家族中鉴定到与胚乳和根特异性元件。经染色体定位和共线性分析, *TdSBEs* 家族成员主要在第二和第七同源群, 并鉴定到一对串联复制基因。经表达特性分析, *TdSBEs* 基因主要在穗和籽粒中高表达, 且其表达具有时空特异性。以上结果说明, 野生二粒小麦中存在多个 *TdSBEs* 基因, 且主要在穗和籽粒中表达, 在启动子区域有大量与植物生长发育、植物激素以及逆境反应相关的顺式作用元件。

关键词: 野生二粒小麦; 淀粉分支酶; 生物信息学; 表达特性

中图分类号: S512.9; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2025)07-0913-09

Identification and Expression Analysis of SBE Gene Family in Wild Emmer Wheat

FENG Zhengkai, YANG Xiaoying, XU Xiaomin, HUANG Chenxi, SONG Siyuan,
DING Xu, ZHU Liya, XIONG Hui, CHEN Chunhuan, ZHAO Jixin,
WANG Changyou, LI Tingdong, DENG Pingchuan, JI Wanquan

(College of Agriculture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Starch branching enzyme is one of the key enzymes involved in plant starch biosynthesis and metabolism. In order to explore the function of starch branching enzyme in wild emmer wheat, nine starch branching enzyme genes (*TdSBEs*) were identified based on the genome data of wild emmer wheat by bioinformatics methods, and their physical and chemical properties, phylogeny, *cis*-acting elements, collinearity, and expression pattern were analyzed. The results showed that the molecular weight of the protein for the nine *TdSBEs* was between 65 518.04 and 151 934.4 Da, with isoelectric point ranging from 5.37 to 6.64. The subcellular localization for all *TdSBEs* were in the chloroplast. Phylogenetic analysis showed that the nine *TdSBEs* were classified into 3 subfamilies. Majority of the gene within the same subfamily were conserved in gene structure and motif, except for *TdSBE1-7A1*. The *TdSBEs* contained the *cis*-elements related to plant hormones, plant growth and development, and abiotic stress response. In addition, endosperm and root specific-expression elements were also

收稿日期: 2024-05-29

修回日期: 2024-07-12

基金项目: 杨凌种业创新中心重点研发项目(Ylzy-xm-03)

第一作者 E-mail: f15154305368@163.com(冯政凯)

通讯作者 E-mail: jiwantuan2008@126.com(吉万全)

found in *TdSBE2s*. Chromosomal localization and collinearity analysis showed that the members of the *TdSBEs* were located in the group-2 and-7 homologous chromosomes, and a pair of tandem replication genes were identified. The *TdSBEs* were highly expressed in spike and grain, showing spatial-temporally specific expression. The above results indicate that there are multiple *TdSBEs* genes in wild emmer wheat, which are mainly expressed in spikes and grains. There are a large number of cis-acting elements related to plant growth and development, plant hormones, and stress response in the promoter region.

Keywords: Wild emmer wheat; Starch branching enzyme; Bioinformatics; Expression patterns

小麦是全球最重要的粮食作物之一,提高产量和品质一直是小麦遗传育种努力的重要方向^[1]。野生二粒小麦是小麦重要的遗传改良基因库。淀粉是储存碳水化合物的主要形式,由直链淀粉和支链淀粉组成,它们是葡萄糖聚合物,约占小麦粒重的 65%~70%,在人类饮食中具有重要意义。植物淀粉合成过程比较复杂,参与合成的酶主要有淀粉分支酶(SBE)、焦磷酸化酶(AG-PP)、淀粉合成酶(SS)和脱支酶(DBE)四种^[2]。其中 SBE 属于 α -淀粉酶类,目前主要分为 SBE1、SBE2 和 SBE3, SBE2 又细分为 SBE2a 和 SBE2b。SBE1 作用底物是直链淀粉,可将直链淀粉浓缩成长葡聚糖链,但其活性的丧失对淀粉的合成和组成没有显著影响^[3]。SBE2 主要以短葡聚糖链为底物合成支链淀粉,在支链淀粉合成中起着重要作用^[4],而 SBE3 的生物学功能仍不明晰^[5]。

SBE 作为直接参与淀粉生物合成的关键酶,具有双重催化功能:一方面,它能切开 α -1,4 糖苷键连接的葡聚糖链(包括直链淀粉和支链淀粉的直链区);另一方面,它又能把切下的短链通过 α -1,6 糖苷键连接于受体链上,该反应不仅产生分支,而且非还原端可供 α -1,4 葡聚糖链进一步延伸,从而使葡聚糖产生分支^[6-8]。研究发现,玉米胚乳中 SBE1 能使较长的糖苷链转移到直链淀粉上,而转移到支链淀粉上的能力很弱^[9]。在水稻胚乳中, SBE2b 产生支链短侧链, SSI 和 SSIIa 则延长支链短侧链^[10],且 SBE2b 突变的水稻胚乳中糖、脂肪酸、氨基酸和植物甾醇的积累量普遍增加^[11]。SBE 的缺失导致豌豆、玉米、小麦和马铃薯植株中出现较高的直链淀粉含量,且使淀粉颗粒的形态和组成均发生改变^[12,13]。在小麦中, SBE2 基因突变可促使籽粒直链淀粉和抗性淀粉含量显著增加,但显著降低总淀粉含量、粒重和籽粒产量^[14]。

目前,有关 SBE 基因家族在小麦($2n = 6x =$

42, AABBDD)、水稻上的研究较多,但在野生二粒小麦(*Triticum dicoccoides*, $2n = 4x = 28$, AABB)上鲜见报道。野生二粒小麦作为六倍体普通小麦 A 和 B 染色体组的祖先供体种^[15],在六倍体普通小麦基因的功能位点表达研究领域有重要的应用价值^[16,17]。本研究采用生物信息学的方法,在全基因组层面对 SBE 家族基因进行鉴定,并从理化性质、保守结构域、进化关系、基因结构、启动子顺势作用元件、共线性分析、时空表达特性多个方面进行了系统分析,以期为后续野生二粒小麦 SBE 基因家族的深入分析、小麦淀粉合成主要功能位点作用机制揭示奠定基础。

1 材料与方法

1.1 小麦 SBE 家族成员的鉴定

从拟南芥数据库 TAIR 网站(<http://www.arabidopsis.org/>)下载 SBE 基因家族成员蛋白序列,水稻 SBE 家族成员蛋白序列从水稻数据库网站(<http://rice.plantbiology.msu.edu/index.shtml>)下载,野生二粒小麦基因组序列、注释信息和蛋白序列从 Ensembl Plant 网站(<http://plants.ensembl.org/>)下载。本研究用两种方式鉴定野生二粒小麦 SBE 基因家族成员:首先,建立本地野生二粒小麦蛋白库,通过本地 Blastp,用水稻 SBE 家族成员比对野生二粒小麦蛋白序列,参考值 E 值 $\leq 10^{-5}$ 。同时,以拟南芥和水稻 SBE 基因家族成员序列通过 hmmbuild 构建隐马尔可夫模型,通过 hmm search 程序搜索野生二粒小麦蛋白序列,参考值 $E \leq 0.001$ 。然后合并上述得到的序列,手工去除冗余,将其提交 NCBI CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>)与 SMART(<http://smart.embl.de/>)数据库,验证其保守蛋白结构域,对具有特有保守蛋白结构域 Alpha-amylase、Alpha-amylase_C 和 CBM_48 的序列进行保留,确定为野生二粒小麦 SBE 基因家

族成员并进一步分析。

1.2 理化性质分析

在 ExPASy 网站 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 提交 TdSBEs 成员, 预测其分子量、等电点和氨基酸数, 通过 CELLO 网站 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) 进行亚细胞定位。

1.3 基因结构、蛋白结构域及系统发育分析

根据下载的野生二粒小麦注释文件 GFF3, 通过 Tbttools 可视化 UTR、CDS 区域。将 TdSBEs 蛋白序列提交至 MEME 网站 (<https://meme-suite.org/>), 对蛋白保守基序鉴定, motif 数目设置为 8。利用 ClustalX2 软件, 对拟南芥、水稻和野生二粒小麦三个物种氨基酸序列比对, 利用 Tbttools 对比对后的序列进行修剪, 通过 MEGA7.0 软件, 使用邻接法 (Neighbor-Joining), Bootstrap 值设为 1 000 次重复, 其他参数使用默认值, 构建系统发育进化树, 然后利用 ITOL 在线工具 (<https://itol.embl.de/>) 对进化树进行美化。

1.4 顺式作用元件分析

将野生二粒小麦基因组文件上传 Tbttools, 提取 TdSBEs 基因上游 2 000 bp 序列, 然后提交至 PlantCare 网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>), 通过此网站预测启动子顺式作用元件, 并手工整理, 并将所获结果利用 Tbttools 可视化。

1.5 染色体定位及共线性分析

利用下载的野生二粒小麦基因组文件和注释文件, 获取 TdSBEs 基因在染色体上的位置信息, 通过 Tbttools 对其进行可视化, 通过 Tbttools 中 MCScanX 对野生二粒小麦进行物种间的共线性关系分析, 并用 Tbttools 可视化。

1.6 TdSBE 基因表达分析及验证

在小麦公共数据库 WheatOmics 1.0 (<http://202.194.139.32/>) 下载野生二粒小麦 TdSBEs 基因时空表达数据, 然后利用 R 4.3.1 绘制表达热图。取与公共表达数据对应时期的野生二粒小麦穗和籽粒不同时期样品, 每个样品 3 次生物学重复。使用植物多糖多酚总 RNA 提取试剂盒 (天根, DP441) 提取所有样品总 RNA, 然后使用 FastKing 试剂盒 (天根, KR118) 将 RNA 反转成 cDNA, 于 -20 °C 保存备用。设计荧光定量 PCR 引物, 送奥

科 (陕西) 生物科技有限公司合成。选择 *TdGADPH* (F: 5'-GAGGTCATCGTCATCAACGACAG-3', R: 5'-GTTGGAGACGACCTGGATGTTCC-3') 为内参基因^[18], 其他引物序列见表 1。反应体系为 10 μ L: TB Green Premix Ex Taq II 5.0 μ L, 上下游引物各 0.4 μ L, cDNA 1.0 μ L, dd H₂O 3.2 μ L。反应程序: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 10 s, 60 °C 20 s, 进行 40 个循环。基因相对表达量采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算^[19]。

2 结果与分析

2.1 野生二粒小麦 TdSBEs 基因鉴定及其理化性质分析和亚细胞定位

以拟南芥和水稻 SBE 序列为靶蛋白, 整合 blastp 和 hmmsearch 两种途径, 搜索野生二粒小麦基因组蛋白数据库, 并利用保守结构域 Alpha-amylase、Alpha-amylase_C 和 CBM_48 筛选, 共鉴定到 9 个 TdSBEs。根据注释信息 (表 2), 该家族成员主要集中在 2A、2B、7A 和 7B 染色体, 据其位置信息分别命名为 *TdSBE1-7A1*、*TdSBE1-7A2*、*TdSBE1-7B*、*TdSBE2a-2A*、*TdSBE2a-2B*、*TdSBE2b-2A*、*TdSBE2b-2B*、*TdSBE3-7A*、*TdSBE3-7B*。对蛋白理化性质分析发现, TdSBEs 氨基酸序列长度为 576 ~ 1 355 aa, 编码蛋白序列最短的基因是 *TdSBE1-7A1*, 编码蛋白序列最长的基因是 *TdSBE1-7B*。蛋白分子量范围 65 518.04 ~ 153 928.26 Da, 等电点范围是 5.37 ~ 6.64, 均为酸性, 且所有成员亚细胞定位均在叶绿体中。

2.2 系统发育、基因结构、保守结构域分析

通过 MEGA7.0 软件, 用 NJ 法将 9 个野生二粒小麦 TdSBEs 基因与 3 个拟南芥和 4 个水稻 SBE 基因构建系统发育进化树, 进行系统进化分析。结果 (图 1) 显示, 野生二粒小麦 TdSBEs 被划分为 3 个类型 Group I、Group II 和 Group III。Group I 包含 4 个基因 (*TdSBE1-7A1*、*TdSBE1-7A2*、*TdSBE1-7B* 和 *OsSBE1*), 没有拟南芥 *AtSBE* 基因; Group II 包含 8 个基因 (*TdSBE2a-2A*、*TdSBE2a-2B*、*TdSBE2b-2A*、*TdSBE2b-2B*、*AtSBE2.2*、*AtSBE2.1*、*OsSBE2a* 和 *OsSBE2b*), 在 Group II 中, 水稻和野生二粒小麦中 SBE 基因又分为了 SBE2a 和 SBE2b 两类, 拟南芥与其关系相对较远; Group III 包含 4 个基因, 分别为 *TdSBE3-7A*、*TdSBE3-7B*、*AtSBE3* 和 *OsSBE3*。

表 1 *TdSBEs* 基因的实时荧光定量 PCR 引物序列

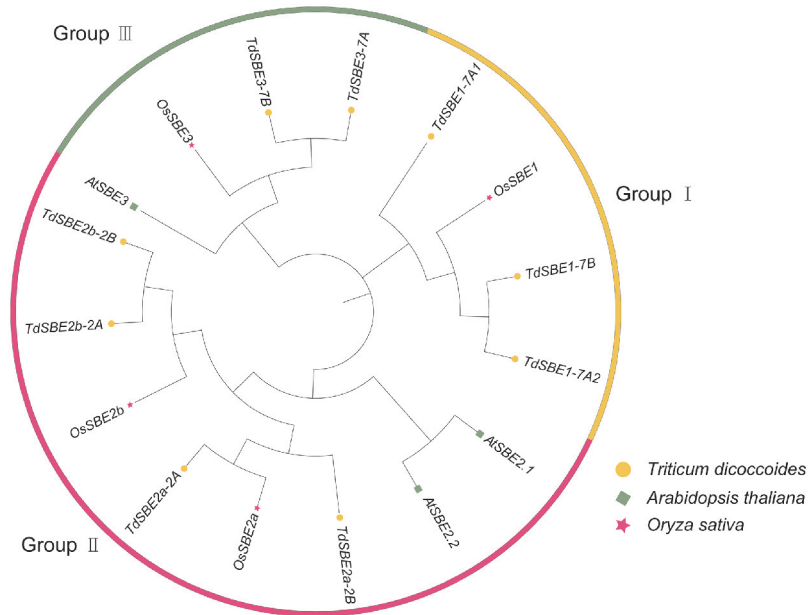
Table 1 Real-time fluorescent quantitative PCR primers sequences for *TdSBEs* genes

基因 Gene	引物序列 (5'-3') Primer sequence	
<i>TdSBE1-7A1</i>	F: TGAGCCACCGAGATCTGTTC	R: GTCAGCATCGTTCGCATCAGA
<i>TdSBE1-7A2</i>	F: GTCTTCGCTTCGCTGGTGC	R: ATATCGGAAGGTCGCCGAAG
<i>TdSBE1-7B</i>	F: TCTTCGCTTCGCTGGTGC	R: GAGAACTCTTCAAGGCCCCC
<i>TdSBE2a-2A</i>	F: CCAAAATGCCGATGAAACCA	R: TGCCCATCTCCTGGTTTTGG
<i>TdSBE2a-2B</i>	F: CGAGAAAATAGGAGGCTCCAC	R: ACCATCTGGAACAGGGATGC
<i>TdSBE2b-2A</i>	F: GGAAGGGAGCCATCACGTAG	R: CCCAGGAGTGGAGGAGAGTT
<i>TdSBE2b-2B</i>	F: CCGACAAATGGATTGAACTT	R: CCTAAACCCATTGTGATAAGTC
<i>TdSBE3-7A</i>	F: TCACAGTCGGTCGATCGGAAAG	R: CGTCTCTCTGCAAACATCGAA
<i>TdSBE3-7B</i>	F: TCACAGTCGGTCGATCGGAAAG	R: CGTCTCTCTGCAAACATCGAA

表 2 野生二粒小麦 *TdSBE* 基因信息及理化性质

Table 2 Genomic information and physicochemical characteristics of *TdSBE* gene family members in wild emmer wheat

基因 Gene	基因 ID Gene ID	等电点 pI	蛋白分子量 Molecular weight of protein/Da	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>TdSBE1-7A1</i>	TRIDC7AG076190	6.64	65 518.04	Chloroplast
<i>TdSBE1-7A2</i>	TRIDC7AG076220	6.06	151 934.40	Chloroplast
<i>TdSBE1-7B</i>	TRIDC7BG073100	6.08	153 928.26	Chloroplast
<i>TdSBE2a-2A</i>	TRIDC2AG042370	5.37	93 016.24	Chloroplast
<i>TdSBE2a-2B</i>	TRIDC2BG045480	5.37	91 094.13	Chloroplast
<i>TdSBE2b-2A</i>	TRIDC2AG045200	5.52	90 994.76	Chloroplast
<i>TdSBE2b-2B</i>	TRIDC2BG047810	5.42	91 316.17	Chloroplast
<i>TdSBE3-7A</i>	TRIDC7AG046940	6.22	103 500.24	Chloroplast
<i>TdSBE3-7B</i>	TRIDC7AG040790	6.34	107 393.79	Chloroplast



拟南芥 SBE 基因 (ID) 分别为 *AtSBE2.1* (AT2G36390)、*AtSBE2.2* (AT5G03650) 和 *AtSBE3* (AT3G20440)。水稻的 SBE 基因 (ID) 分别为 *OsSBE1* (Os06t0726400)、*OsSBE2a* (Os04t0409200)、*OsSBE2b* (Os06t0367100) 和 *OsSBE3* (Os02t0528200)。

The SBEs (ID) in *Arabidopsis* are *AtSBE2.1* (AT2G36390), *AtSBE2.2* (AT5G03650) and *AtSBE3* (AT3G20440), respectively. The SBES (ID) in rice are *OsSBE1* (Os06t0726400), *OsSBE2a* (Os04t0409200), *OsSBE2b* (Os06t0367100) and *OsSBE3* (Os02t0528200), respectively.

图 1 野生二粒小麦 *TdSBEs* 系统发育分析

Fig. 1 Phylogenetic analysis of *TdSBEs* in wild emmer wheat

除了 *TdSBE1-7A1* 基因外显子数目为 6 个外,其余 *TdSBEs* 外显子位置相对保守,数目相近,介于 20~22 之间(图 2)。

保守基序 motif 分析发现, *TdSBEs* 大部分成员的 motif 相对保守(图 2)。相较而言,仅 *TdSBE1-7A1* 基因的 motif 较少,缺少 motif 4、motif 6 和 motif 8; *TdSBE1-7A2* 和 *TdSBE1-7B*, 除 motif 6 外,其余 motif 均出现 1 次重复,表明不同亚家族间基因保守基序的位置与数目差异较大,其可能赋予不同亚家族间功能分化。

2.3 顺式作用元件分析

DNA 结合转录因子通常通过识别靶基因启动子区域的顺式作用元件发挥作用。提取 *TdSBEs* 启动子上游 2 000 bp 序列,并利用 PlantCare 在线工具进行分析,共鉴定到 17 个顺式作用元件(图 3),其功能主要参与植物胁迫响应、生长发育和植物激素调控。值得注意的是, *TdSBE1* 基因的启动子区域包含了与赤霉素反

应、脱落酸反应、茉莉酸反应、干旱诱导、光反应、低温反应、厌氧诱导、缺氧特异性诱导反应、分生组织表达和醇溶蛋白代谢有关的元件。 *TdSBE2* 基因除了包含了赤霉素反应、脱落酸反应、茉莉酸反应、干旱诱导、光反应、低温反应、厌氧诱导、缺氧特异性诱导反应和分生组织表达元件,还被鉴定出与根和胚乳特异性表达相关的元件。 *TdSBE3* 基因启动子区域的顺式作用元件主要参与赤霉素反应、脱落酸反应、茉莉酸反应、光反应、缺氧特异性诱导反应和分生组织表达。以上结果表明,野生二粒小麦 *TdSBEs* 启动子顺式调控元件涉及诸多调控。在启动区域发现了光反应元件, *TdSBEs* 的调控可能受到光周期的诱导。 *TdSBE2* 中还发现了胚乳特异性表达相关的元件, *TdSBE2* 可能在淀粉合成中具有重要作用,也涉及到多个植物激素反应和逆境反应,说明了 *TdSBEs* 家族调控机制的复杂性。

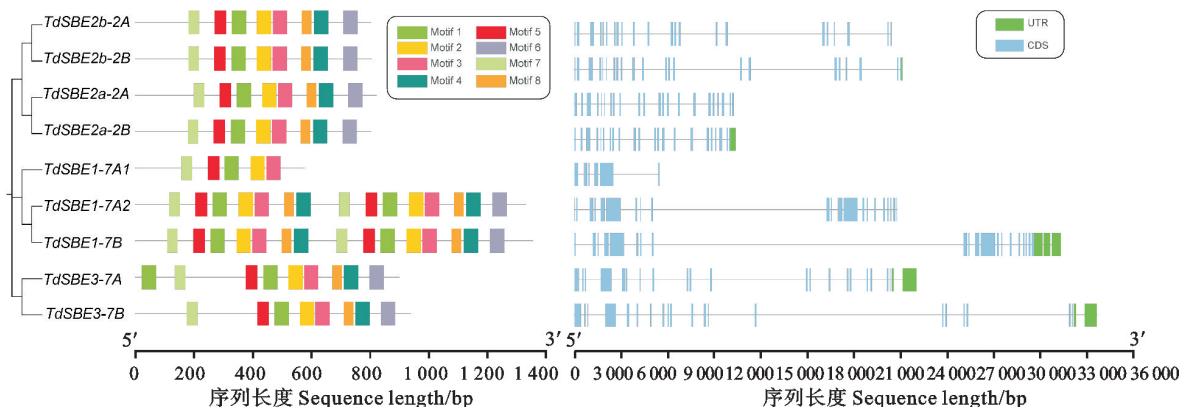


图 2 *TdSBEs* 基因结构和 motif 保守性分析

Fig. 2 Gene structure and motif conservation analyses of *TdSBEs*

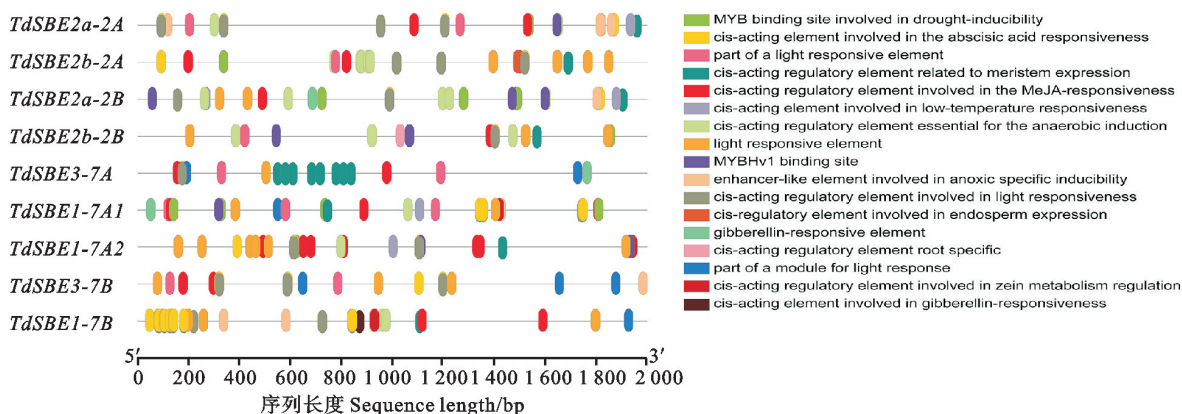


图 3 *TdSBEs* 启动子顺式作用元件分析

Fig. 3 Analysis of *cis*-acting elements in promoter region of *TdSBEs*

2.4 染色体定位及共线性分析

野生二粒小麦 *TdSBEs* 成员主要分布在第二和第七同源群即 2A、2B、7A 和 7B 上(图 4)。经共线性分析,有 4 组基因表现出共线性特征 (*TdSBE1-7A2* 和 *TdSBE1-7B*、*TdSBE2a-2A* 与

TdSBE2a-2B、*TdSBE2b-2A* 与 *TdSBE2b-2B*、*TdSBE3-7A* 与 *TdSBE3-7B*) , 基因 *TdSBE1-7A1* 与 *TdSBE1-7A2* 串联重复(图 5)。*TdSBEs* 基因在进化过程中仅出现一次串联复制事件,在进化过程中具有高度保守性。

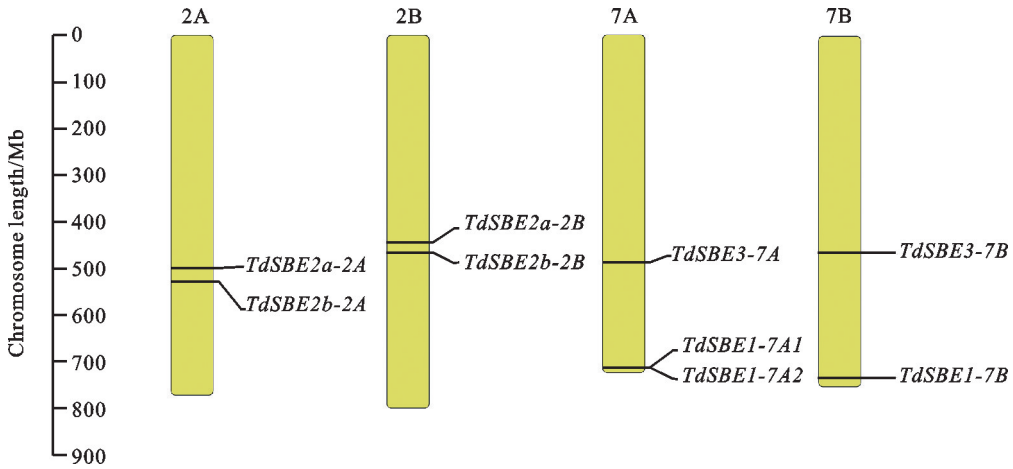


图 4 *TdSBEs* 基因染色体分布

Fig. 4 Chromosome location of *TdSBEs* genes

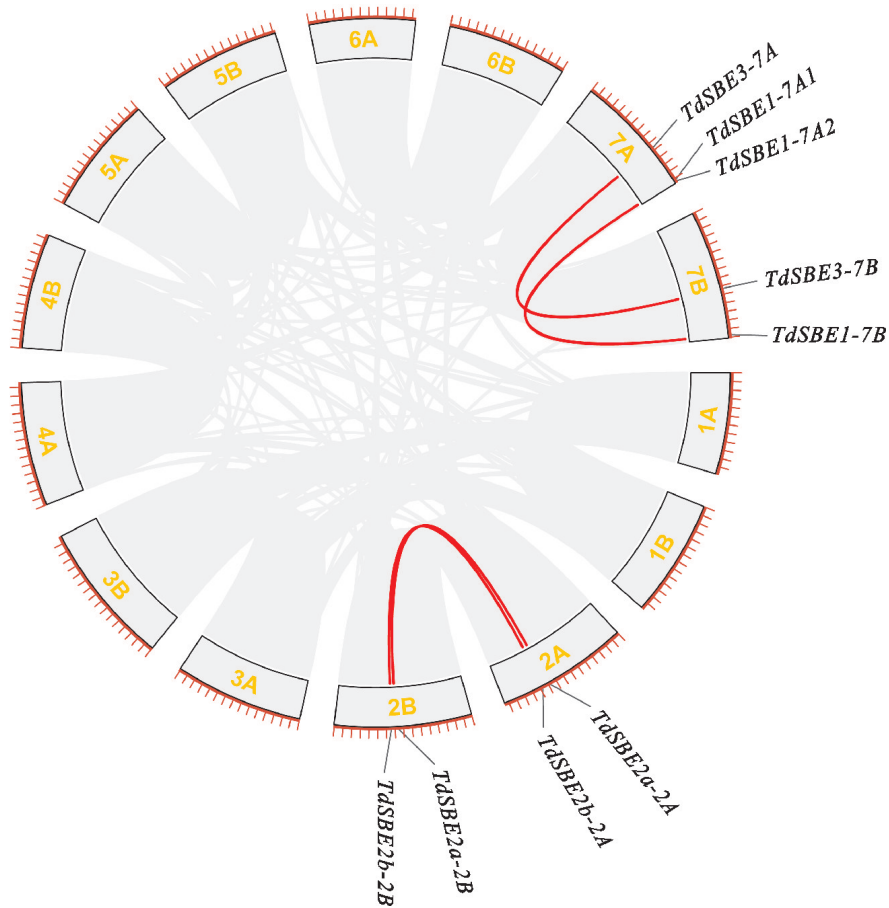


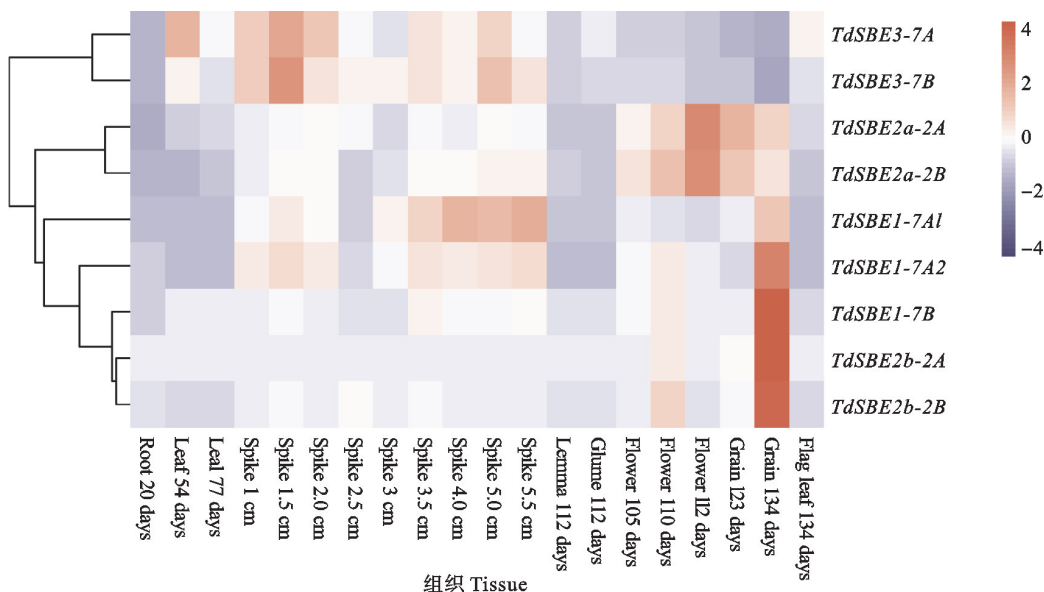
图 5 *TdSBEs* 基因共线性分析

Fig. 5 Collinear analysis of *TdSBEs* genes

2.5 TdSBEs 基因表达模式分析

通过对来自小麦公共数据库 WheatOmics 1.0 中野生二粒小麦根、叶、穗、颖、花、籽粒、旗叶中不同基因表达热图分析, *TdSBE1* 主要在穗和籽粒中表达,且在籽粒中表达量更高(图 6); *TdSBE2a* 主要在花和籽粒中表达,播后 112 d 花中表达量最高。 *TdSBE2b* 在播后 134 d 籽粒中表达量最高; *TdSBE3* 主要在穗和叶中表达; 9 个 *TdSBEs* 在穗和籽粒中的表达量明显比其他组织高,而在根和颖中表达量较低。这说明 *TdSBE1*、*TdSBE2a* 和

TdSBE2b 主要对籽粒形成发挥功能,可能对淀粉合成具有重要贡献,而 *TdSBE3* 在叶和穗组织中表达量较高,可能在生长发育中发挥了一定的功能。野生二粒小麦 *TdSBEs* 基因的表达模式具有高度的组织和时间特异性,相同亚家族内的不同成员间表达模式相近。通过 qRT-PCR 分析, *TdSBE3* 在穗中的表达量高于籽粒中的表达量,其他 *TdSBEs* 基因均在籽粒中的表达量高于穗中的表达量,与公共数据库中下载的数据 *TdSBEs* 基因表达结果一致(图 7)。



组织名后天数或长度是取样时间或长度,其中天数为播种后天数。

The day number or length after the tissue names is the sampling time or length, and the day number refer to the day number after sowing.

图 6 不同发育时期不同组织中 *TdSBEs* 基因的表达模式

Fig. 6 Gene expression of *TdSBEs* in different tissues at different stages

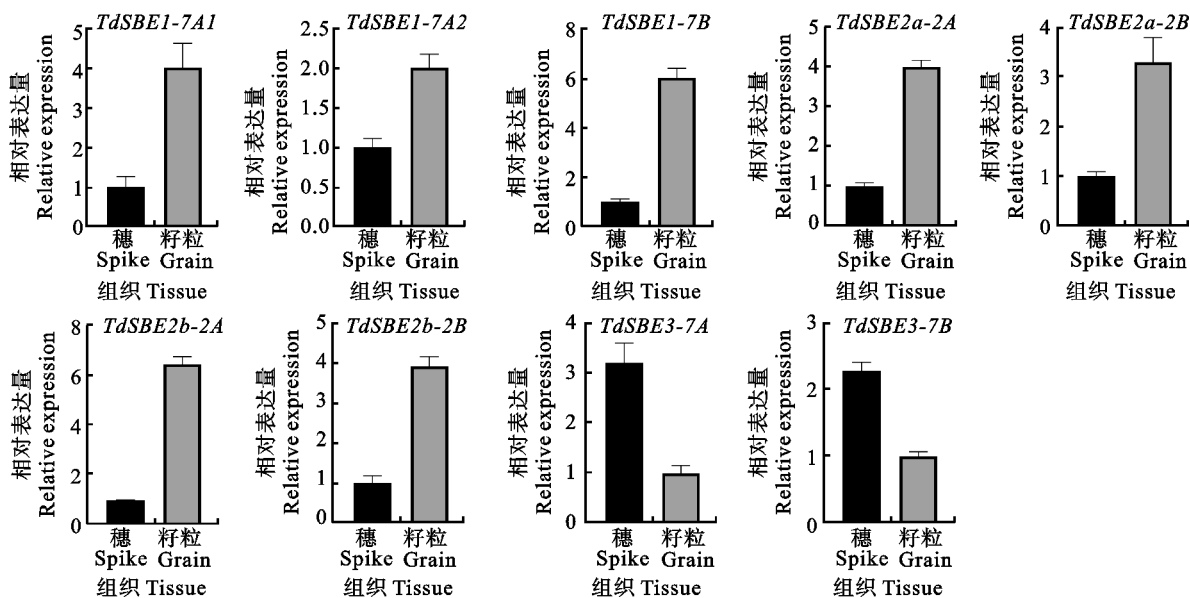


图 7 不同 *TdSBEs* 基因在穗和籽粒中的表达

Fig. 7 Expression levels of different *TdSBEs* genes in spike and grain

3 讨论

淀粉分支酶基因在支链淀粉合成过程中居于重要位置,与淀粉含量、颗粒结构及其他性质关联密切。本研究利用生物信息学,从野生二粒小麦全基因组层面出发,经过保守结构域筛选验证,共鉴定到 9 个 *TdSBEs* 基因。理化性质分析发现,不同亚家族成员在分子量大小、等电点范围、氨基酸个数均有较大差异,相同亚家族成员间分子量大小、等电点范围、氨基酸个数差异不大。*TdSBEs* 基因等电点均在 5~7 之间,表明蛋白为酸性氨基酸,与小麦上的报道一致^[2]。*TdSBEs* 基因亚细胞定位均在叶绿体,说明该家族成员可能在物质合成通路中发挥作用。

与拟南芥、水稻及其他谷物作物系统发育进化研究相近^[20],*TdSBEs* 基因可被划分成 3 组。其中,Group I 仅有野生二粒小麦和水稻基因,而 Group II 和 Group III 同时包含野生二粒小麦、水稻和拟南芥 SBE 基因。通过分析基因结构发现,整个家族的外显子数目差异不大,且内含子、外显子数目较多。亚家族内的不同成员间具有相似的基因结构,说明其在功能上可能具有相似性。野生二粒小麦 *TdSBEs* 基因保守基序 motif 的位置与顺序几乎没有差异,说明此家族在进化过程中相对保守。同时,我们鉴定到的 *TdSBE1-7A1* 与 *TdSBE1-7A2* 为串联复制基因,在功能上可能具有相似性。

野生二粒小麦 *TdSBEs* 基因启动子区域共鉴定到 17 种顺式作用元件,主要参与 MYB 干旱诱导、脱落酸反应、赤霉素反应、MeJA 反应、低温反应、光响应、与分生组织表达相关、厌氧诱导、缺氧特异性诱导的增强子、胚乳表达、调节根特异性和玉米醇溶蛋白代谢等方面。在前人研究中,淀粉合成代谢受到植物自身调节与光照时间长短的调控,SBE 基因的表达呈现出了昼夜波动^[21,22]。与此相应,野生二粒小麦 *TdSBEs* 基因启动子区域也包含多个光反应元件,该结果在拟南芥、马铃薯中也被报道^[4]。此外,在木薯中,SBE 家族成员包含与脱落酸反应、赤霉素反应和茉莉酸反应相关的多个元件^[23],与本研究所得结果一致,表明野生二粒小麦 *TdSBEs* 基因表达可能受植物激素调控。本研究还在 *TdSBE2* 中还鉴定到了与胚乳表达相关的元件和根特异性元件。

前人研究表明,SBE 基因在淀粉合成中起着

关键作用,SBE2 基因的缺失可导致豌豆中淀粉含量急剧减少^[24]。通过对野生二粒小麦 *TdSBEs* 基因表达模式分析,发现 *TdSBE2s* 基因在籽粒中呈现高表达,可能在淀粉合成过程也发挥了重要功能。此外,*TdSBEs* 基因表达模式具有时空特异性,这与六倍体普通小麦中的报道一致^[2]。

4 结论

本研究在野生二粒小麦中鉴定出了 9 个 *TdSBEs* 基因,主要分布在第二同源群和第七同源群。在 *TdSBEs* 启动子区域,发现大量的顺式元件,这些元件与激素反应、植物生长发育、植物抗逆有关,*TdSBEs* 可能受到光周期与激素的调控。根据基因的表达谱及 qRT-PCR 结果,*TdSBEs* 主要在穗和籽粒中表达,*TdSBE1* 在穗中和籽粒形成后期表达量较高,*TdSBE2a* 在籽粒中比 *TdSBE2b* 表达得更早,*TdSBE3* 在穗叶中表达量较高。

参考文献:

- [1] JONES J M, PEÑA R J, KORCZAK R, *et al.* CIMMYT series on carbohydrates, wheat, grains, and health: Carbohydrates, grains, and wheat in nutrition and health: An overview. Part II. grain terminology and nutritional contributions [J]. *Cereal Foods World*, 2015, 60(6): 260.
- [2] 王明洋. 小麦淀粉分支酶基因 *TaSBEs* 单倍型及基因编辑研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2023.
WANG M Y. Study on haplotype and gene editing of wheat starch branching enzyme gene *TaSBEs* [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2023.
- [3] PEI J, WANG H, XIA Z, *et al.* Phylogeny and expression pattern of starch branching enzyme family genes in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) under diverse environments [J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2015, 406(1-2): 273.
- [4] YU J, WANG K, BECKLES D M. Starch branching enzymes as putative determinants of postharvest quality in horticultural crops [J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1): 479.
- [5] MIAO H, SUN P, LIU Q, *et al.* Molecular identification of the key starch branching enzyme-encoding gene *SBE2.3* and its interacting transcription factors in banana fruits [J]. *Horticulture Research*, 2020, 7: 101.
- [6] LÉLOIR L F. Two decades of research on the biosynthesis of saccharides [J]. *Science*, 1971, 172(3990): 1299.
- [7] TETLOW I J, EMES M J. A review of starch-branching enzymes and their role in amylopectin biosynthesis [J]. *IUBMB Life*, 2014, 66(8): 546.
- [8] BALL S, GUAN H P, JAMES M, *et al.* From glycogen to amylopectin: A model for the biogenesis of the plant starch granule [J]. *Cell*, 1996, 86(3): 349.

- [9] GAO M, FIAHER D K, KIM K M, *et al.* Independent genetic control of maize starch branching enzymes isolation characterization of a *SBE2a* cDNA [J]. *Plant Physiology*, 1997, 114(1):69.
- [10] CROFTS N, IIZUKA Y, ABE N, *et al.* Rice mutants lacking starch synthase I or branching enzyme IIb activity altered starch biosynthetic protein complexes [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9:1817.
- [11] BAYSAL C, HE W, DRAPAL M, *et al.* Inactivation of rice starch branching enzyme IIb triggers broad and unexpected changes in metabolism by transcriptional reprogramming [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(42):26503.
- [12] MORELL M K, BLENNOW A, KOSAR-HASHEMI B, *et al.* Differential expression and properties of starch branching enzyme isoforms in developing wheat endosperm [J]. *Plant Physiology*, 1997, 113(1):201.
- [13] 裴金利, 陈新, 夏志强, 等. 木薯淀粉分支酶基因 *MeSBE2.2* 的克隆和表达分析[J]. 中国农业大学学报, 2015, 20(4):36. PEI J L, CHEN X, XIA Z Q, *et al.* Cloning and expression analysis of starch branching enzyme gene (*MeSBE2.2*) in cassava [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20(4):36.
- [14] SCHÖNHOFEN A, ZHANG X, DUBCOVSKY J. Combined mutations in five wheat starch branching enzyme II genes improve resistant starch but affect grain yield and bread-making quality [J]. *Journal of Cereal Science*, 2017, 75:165.
- [15] ZOHARY D. Wild genetic resources of crops in Israel [J]. *Israel Journal of Botany*, 1983, 32(2):97.
- [16] KUSHNIR U, HALLORAN G M. Transfer of high kernel weight and high protein from wild tetraploid wheat (*Triticum turgidum* dicoccoides) to bread wheat (*T. aestivum*) using homologous and homoeologous recombination [J]. *Euphytica*, 1984, 33(1):249.
- [17] NEVO E. Ecological genomics of natural plant populations: The Israeli perspective [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2009, 513:321.
- [18] 高英, 杨光, 张瑞浦, 等. 野生二粒小麦 YABBY 转录因子家族的鉴定与表达分析[J]. 分子植物育种, 2023, 21(1):17. GAO Y, YANG G, ZHANG R P, *et al.* Identification and expression analysis of YABBY transcription factor family in wild emmer wheat [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2023, 21(1):17.
- [19] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4):402.
- [20] 裴金利. 木薯 *MePho* 和 *MeSBE* 基因家族及其在多种环境下表达模式分析[D]. 海口:海南大学, 2016. PEI J L. Analysis of *MePho* and *MeSBE* gene families in cassava and their expression patterns in various environments [D]. Haikou: Hainan University, 2016.
- [21] BAGUMA Y, SUN C, AHLANDSBERG S, *et al.* Expression patterns of the gene encoding starch branching enzyme II in the storage roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) [J]. *Plant Science*, 2003, 164(5):833.
- [22] DONG M Y, FAN X W, LI Y Z. Cassava AGPase genes and their encoded proteins are different from those of other plants [J]. *Planta*, 2019, 250(5):1621.
- [23] CAO Y N, HU W G, WANG C S. Expression profiles of genes involved in starch synthesis in non-waxy and waxy wheat [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2012, 59(5):632.
- [24] BHATTACHARYYA M K, SMITH A M, ELLIS T H, HEDLEY C, MARTIN C. The wrinkled-seed character of pea described by Mendel is caused by a transposon-like insertion in a gene encoding starch-branching enzyme [J]. *Cell*, 1990, 60(1):115.