作物学报 ACTA AGRONOMICA SINICA 2026, 52(6): 1711−1727 http://zwxb.chinacrops.org/
ISSN 0496-3490; CN 11-1809/S; CODEN TSHPA9 E-mail: zwxb301@caas.cn

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.51096

小麦 ABHD6 基因家族鉴定与粒重功能标记开发

张献丰[1,2] 郭利建[1] 李康春[1,2] 孔斌雪[3] 刘玉芳[1,2] 车 卓[1] 杨德龙[1,2,3,*]

[1] 甘肃农业大学干旱生境作物学国家重点实验室, 甘肃兰州 730070; [2] 甘肃农业大学生命科学技术学院, 甘肃兰州 730070; [3] 甘肃农业大学农学院, 甘肃兰州 730070

摘 要: α/β-水解酶蛋白 6 (α/β-hydrolasedomain-containing 6, ABHD6)作为丝氨酸水解酶超家族的重要成员, 在调控植物生长发育及环境胁迫响应中发挥重要作用。然而, 目前仍缺乏对小麦(*Triticum aestivum* L.) ABHD6 基因家族的系统性鉴定与分析。本研究综合利用系统进化、蛋白质序列分析、启动子顺式作用元件预测以及单倍型分析等方法, 在小麦基因组中共鉴定出 18 个 TaABHD6 家族成员。系统进化与结构分析表明, 小麦 TaABHD6 蛋白与水稻 OsABHD6 蛋白亲缘关系较近, 同一进化分支内的成员具有高度相似的保守结构域。启动子分析显示, TaABHD6 基因家族启动子区富含多种参与植物生长发育调控的顺式作用元件。通过分析 TaABHD6 基因家族成员的基因组多态性及其与籽粒表型的关联, 鉴定出 8 个基因存在不同的单倍型。其中, 3 个基因的不同单倍型与籽粒相关性状之间存在显著关联。*TaABHD6-5* 基因的不同单倍型与粒重、粒长、粒宽和粒厚均显著关联。针对 *TaABHD6-5* 启动子区域−1045 bp 处 SNP (A/T)开发 KASP 分子标记, 在 305 份小麦种质中进行验证, 发现该功能标记可有效区分 2 种单倍型, 其中, *TaABHD6-5*-HapI 单倍型品种 268 份, *TaABHD6-5*-HapII 单倍型品种 34 份, 杂合子 2 份, 分型失败 1 份。籽粒表型数据关联分析表明, *TaABHD6-5*-HapI 是增加粒重的优异单倍型。表达模式分析结果表明, *TaABHD6-5* 在孕穗期的茎、穗以及籽粒发育初期表达较高, 且优异单倍型 *TaABHD6-5*-HapI 的表达量显著低于 *TaABHD6-5*-HapII, 表明 *TaABHD6-5* 可能为粒重负调控因子。基因序列分析表明, *TaABHD6-5* 受 miR160 靶向调控。本研究结果为阐明 *TaABHD6* 基因调控小麦籽粒发育的生物学功能及其优异单倍型的应用价值提供重要理论支撑。

关键词: 小麦; α/β-水解酶结构域蛋白 6 (ABHD6); 基因家族鉴定; 单倍型; 分子标记

Identification of the ABHD6 gene family and development of functional markers for grain weight in wheat

Zhang Xian-Feng[1,2], Guo Li-Jian[1], Li Kang-Chun[1,2], Kong Bin-Xue[3], Liu Yu-Fang[1,2], Che Zhuo[1], and Yang De-Long[1,2,3,*]

[1] State Key Laboratory of Aridland Crop Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China; [2] College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China; [3] College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China

Abstract: α/β-Hydrolase domain-containing protein 6 (ABHD6), a key member of the serine hydrolase superfamily, plays important roles in regulating plant growth, development, and responses to environmental stress. However, a systematic genome-wide identification and analysis of the ABHD6 gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.) is still lacking. Here, we integrated phylogenetic analysis, protein sequence characterization, promoter *cis*-acting element prediction, and haplotype analysis, and

本研究由甘肃省科技重大专项(25ZDNA001), 甘肃省麦类产业技术体系项目(GSARS07), 甘肃省教育厅青年博士支持项目(2024QB-062)和省部共建干旱生境作物学国家重点实验室开放基金项目(GSCS-2023-07)资助。

This study was supported by the Gansu Provincial Science and Technology Major Project (25ZDNA001), the Gansu Province Wheat Industry Technology System Project (GSARS07), the Youth Doctoral Support Project of Gansu Provincial Department of Education (2024QB-062), and the Open Fund of the State Key Laboratory of Cropology in Arid Habitat Jointly Established by the Province and Ministry (GSCS-2023-07).

* 通信作者(Corresponding author): 杨德龙, E-mail: yangd1@gsau.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: 3029202284@qq.com

Received (收稿日期): 2025-11-27; Accepted (接受日期): 2026-03-16; Published online (网络出版日期): 2026-03-30.

URL: https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260327.1711.012

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

identified 18 TaABHD6 family members in the wheat genome. Phylogenetic and structural analyses showed that TaABHD6 proteins are closely related to rice OsABHD6 proteins, and that members within the same clade share highly conserved domains. Promoter analysis revealed that TaABHD6 promoters are enriched in *cis*-acting elements associated with plant growth and development. By analyzing polymorphisms in TaABHD6 genes and their associations with grain phenotypes, we identified eight genes with distinct haplotypes. Haplotype variation in three genes was significantly associated with grain-related traits; in particular, *TaABHD6-5* haplotypes were significantly associated with grain weight, length, width, and thickness. We developed a KASP marker based on an A/T SNP at –1045 bp in the *TaABHD6-5* promoter. Validation in 305 wheat accessions showed that this functional marker effectively distinguished two haplotypes: 268 accessions carried *TaABHD6-5*-HapI, 34 carried *TaABHD6-5*-HapII, two were heterozygous, and one accession failed genotyping. Association analysis further indicated that *TaABHD6-5*-HapI is a favorable haplotype for increased grain weight. qRT-PCR showed that *TaABHD6-5* was relatively highly expressed in stems and spikes at booting and during early grain development; notably, expression was significantly lower in the favorable haplotype *TaABHD6-5*-HapI than in *TaABHD6-5*-HapII, suggesting that *TaABHD6-5* may act as a negative regulator of grain weight. Sequence analysis further suggested that *TaABHD6-5* is targeted by miR160. Together, these results provide genome-wide evidence for the roles of *TaABHD6* genes in wheat grain development and highlight the potential breeding value of superior haplotypes.
Keywords: wheat; α/β-hydrolase domain-containing protein 6 (ABHD6); gene family identification; haplotype; molecular marker

小麦(*Triticum aestivum* L.)具有广泛的适应性, 能在多种地理和气候条件下种植, 因此成为全球最重要的粮食作物之一, 对保障世界粮食安全起着关键作用[1]。过去 50 年间, 全球小麦产量从 2.22 亿吨提升到 7.99 亿吨[2]。然而, 面对不断增长的人口和气候变化带来的挑战, 提高小麦产量仍是当前育种的核心任务[3]。因此, 深入研究小麦籽粒发育的分子机制和遗传基础, 挖掘与产量相关的重要基因家族及其功能, 可为小麦分子遗传改良提供关键靶点。

α/β 水解酶是一类结构和功能高度多样化的酶, 其在植物的生长发育、信号转导以及应对内外环境刺激中发挥重要作用[4]。该家族成员以其保守的 α/β 水解酶折叠(α/β-hydrolase fold)为核心结构, 这是一种由 8 条平行 β 折叠片层及两侧环绕 α 螺旋构成的三维结构, 该结构包含特征性的催化三联体基序(通常为 Ser-Asp-His)[5], 凭借其活性位点构象与化学性质的可塑性, 展现出广泛的催化活性[6]。该结构域赋予了 ABHD6 蛋白水解酯、酰胺等多种底物的能力, 使其在脂代谢、信号调控等生物过程中发挥作用。例如, 含有相同结构的 α/β 水解酶家族蛋白质成员 GID1 (gibberellin insensitive dwarf1)蛋白是赤霉素信号通路的关键受体, 在激素信号通路中扮演着关键角色, 具有调控包括种子萌发等多个生长发育方面的功能[7]。D14 (DWARF14)蛋白是植物中独脚金内酯信号通路的关键组分, 同样属于 α/β 水解酶家族, 在抑制植物分枝方面起着核心作用, 因此, α/β 水解酶家族在提高作物产量和生物量方面具有重要的应用潜力[8-9]。

ABHD6 作为丝氨酸水解酶超家族的重要成员, 其功能研究目前主要集中于人类健康和疾病领域, 例如, 已有研究证实其在结直肠癌的发生中具有关键作用[10-11]。在拟南芥中, ABHD6 同源蛋白 MAX2 (more axillary growth 2)同样具有典型的 α/β 水解酶折叠结构域, 但主要作为泛素连接酶复合物的组分发挥作用, 参与独脚金内酯信号转导, 调控植物分枝、株型以及对干旱胁迫的响应[12]。水稻同源蛋白 STH1 (salt tolerance homolog 1)则通过催化脂肪酸水解, 影响细胞膜的稳定性, 直接提升其耐盐性[13]。然而, 关于小麦 ABHD6 蛋白, 特别是在籽粒发育过程中的功能尚未被深入研究。

随着测序和基因分型技术的发展, 利用小麦基因组学和单倍型分析进行基因挖掘和功能分析变得更加高效[14]。优异单倍型的鉴定和分析为小麦优异种质资源的利用提供了有效途径。KASP (kompetitive allele specific PCR)标记技术作为一种高效、经济的基因分型工具, 在小麦遗传育种中展现出广阔的应用前景[15]。利用该技术能够有效识别和选择与重要农艺性状相关的基因, 从而加速育种进程。目前, KASP 标记已成功应用于籽粒灌浆速率(grain filling rate, GFR)、千粒重(thousand grain weight, TGW)、粒长(grain length, GL)和粒宽(grain wide, GW)等产量性状相关的基因定位和分子辅助选择[16], 例如, Irshad 等[17]通过对淀粉分支酶基因 *TaSBEIII* 的 SNP 分析, 开发出与小麦籽粒重量紧密相关的 KASP 标记; Rehman 等[18]通过对 *TaSnRK2.9-5A* 基因的 SNP 分析, 开发出与高千粒重和高穗粒数紧密相关的 KASP 标记。这些标记的开发为小麦育种提供了优异的基因资源, 但仍需要更多的功能标记以加速小麦分子标记辅助育种进程。

本研究基于小麦参考基因组数据, 鉴定小麦

ABHD6 基因家族成员, 并对其染色体定位、保守结构域、基因组共线性关系以及启动子顺式作用元件进行综合分析。利用 Wheat Union 数据库开展 *TaABHD6* 基因的多态性分析, 并结合已发表的籽粒相关性状表型数据, 对不同单倍型进行关联分析, 从而鉴定出与籽粒发育过程相关的优异单倍型。同时, 对 *TaABHD6-5* 基因的表达水平和上游调控 miRNA 进行了预测和鉴定, 旨在为深入解析 TaABHD6 基因家族在基因组水平上调控小麦籽粒发育的生物学机制提供参考。

1　材料与方法

1.1　植物材料处理及引物合成

本研究采用来自我国不同生态区的 305 份小麦自然群体进行分子标记开发, 该群体于 2021—2022 年度分别种植于甘肃省通渭县小麦育种基地(35°12′N, 105°14′E) (E1)、庄浪南湖小麦育种基地(35°20′N, 105°57′E) (E2)及天水中梁小麦育种基地(34°36′N, 105°38′E) (E3) 3 个试验点。采用随机区组设计, 每份材料 3 次重复, 每个重复种植 3 行, 行长 1 m, 行间距 20 cm, 田间管理同常规种植。于小麦成熟期每个重复随机取样 5 株进行脱粒, 风干后使用万深 SC-G 自动考种分析仪测定千粒重、粒长、粒宽和籽粒大小指标; 选取 15 粒饱满的种子, 使用电子游标卡尺测定粒厚, 取平均值。

用于不同组织时期表达模式分析的材料为小麦品种“中国春”。选取籽粒饱满、大小均匀的种子, 使用 10%次氯酸钠溶液进行表面消毒 30 min 后, 以无菌水充分冲洗 8~10 次。将经消毒的种子置于铺有滤纸的培养皿中, 添加 ddH_2O 使滤纸充分湿润, 种子以间隔约 1 cm 均匀排列。将培养皿置于光周期 16 h 光照/8 h 黑暗、温度 25℃、相对湿度 60%、光照强度为 150~250 μmol m^{-2} s^{-1} 的条件下进行种子萌发。待种子萌发后, 选取萌发状态一致的幼苗移栽至花盆(16 cm × 16 cm × 18 cm)中, 并维持相同的培养条件。分别采集不同发育时期的小麦组织样本, 包括孕穗期的根、茎、叶、穗以及授粉后第 5、10、15 和 20 天的籽粒。取样后立即用液氮快速冷冻, 随后转移至–80℃超低温冰箱中保存, 用于后续 RNA 提取试验。

用于 *TaABHD6-5* 基因 2 种单倍型表达模式分析的材料分别为 HapI (XN30、XN37、XN38、XN41 和 XN68)和 HapII (XN46、XN151、XN156、XN171 和 XN203)。采取上述方法萌发后, 取小麦二叶一心期幼苗叶片后立即用液氮快速冷冻, 随后转移至–80℃超低温冰箱中保存, 用于后续 RNA 提取试验。具体序列号对应的品种关系见表 1。

使用 FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit (Vazyme, RC411)对上述组织样本进行总 RNA 提取。利用超微量分光光度计(祐宁, NanoOne)测定所提 RNA 浓度, 并利用琼脂糖凝胶电泳评估 RNA 完整性。最后, 以质量合格的 RNA 为模板, 采用 HiScript II Q RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)试剂盒(Vazyme, R223)进行基因组 DNA 去除及 cDNA 的合成。

基于 WheatOmics 1.0 数据库(http://wheatomics.sdau.edu.cn/expression/wheat.html)中 IWGSC Annotation v1.1 注释信息, 获取小麦 *TaABHD6-5* 基因序列。利用 NCBI 的 Primer-BLAST 在线工具(https://

表 1　序列号对应品种名称
Table 1　Correspondence between serial numbers and variety names

序列号 Serial number	单倍型信息 Haploid information	品种名称 Variety name
XN30	HapI	11-257-4-1
XN37	HapI	1389-2
XN38	HapI	1-4-8-1
XN41	HapI	1R14
XN46	HapII	1R25
XN68	HapI	99384-2-1
XN151	HapII	复壮 30 Fuzhuang 30
XN156	HapII	旱选 10 号 Hanxuan 10
XN171	HapII	衡 95 观 26 Heng 95 Guan 26
XN203	HapII	冀麦 22 Jimai 22

www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/)针对上述序列进行特异性引物设计。所用引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司完成合成, 具体序列见表 2。

表 2 本研究所用引物
Table 2 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5′–3′)
TaABHD6-5	F: CGAAGCTCATAGGCGCGA
	R: GATCACCACCCGCTCCAC
TaACTIN	F: AGGTGCCCTGAGGTGCTGTT
	R: GCCAAAATAGAGCCACCGAT

1.2 小麦 TaABHD6 基因家族成员鉴定

利用 Ensembl Plants 数据库(http://plants.ensembl.org/info/website/ftp/index.html) 获取小麦(*Triticum aestivum* L.)、大麦(*Hordeum vulgare* L.)、水稻(*Oryza sativa* L.)、玉米(*Zea mays* L.)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)的基因组数据, 包括全蛋白质组序列、基因组注释文件、全基因组序列以及编码序列(CDS)。利用从 InterPro-Pfam 数据库(https://www.ebi.ac.uk/interpro)下载的隐马尔可夫模型(PF12697)作为查询序列, 使用 HMMER 3.0 软件[19](*E* 值阈值设定为< 1e-5)获取各物种中 ABHD6 家族成员的信息。采用 NCBI 的 BatchCD-Search 工具对候选基因进行结构域分析, 筛选出含有 Abhydrolase-6 结构域的家族成员。为确认其保守结构域, 将候选基因的蛋白质序列提交至 SMART (https://www.smart.embl.de)数据库进行验证, 确定小麦 TaABHD6 基因家族成员。利用 ExPASY 在线服务器(https://www.web.expasy.org)计算该家族所有蛋白质成员的分子量(Mw)和理论等电点(pI)。

1.3 ABHD6 基因家族系统进化分析及染色体定位

通过 MEGA11.0 软件[20]中的 ClustalW 模块对小麦、大麦、水稻、玉米和拟南芥的 ABHD6 蛋白序列进行多重比对。基于序列比对结果, 采用邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统发育树, Bootstrap 值设置为 1000, 以检验评估分支的可靠性。最终生成的进化树利用 iTOL 在线平台(https://itol.embl.de)进行可视化展示。基于小麦参考基因组解析 *TaABHD6* 基因在染色体上的物理定位信息, 并整合染色体长度数据, 运用 TBtools 软件绘制其染色体分布图谱。

1.4 小麦 TaABHD6 亚细胞定位预测、基因家族结构和蛋白基序分析

为明确小麦 ABHD6 蛋白的亚细胞定位, 利用 WoLF PSORT 在线工具(https://www.genscript.com/wolf-psort.html)进行分析。基于 CDD 数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/)提供的结构域注释信息, 提取并整理 TaABHD6 蛋白家族成员所含结构域的氨基酸序列及其起始位点。为鉴定相关蛋白的保守基序特征, 采用 MEME 在线平台(http://meme-suite.org/tools/meme)对 ABHD6 家族蛋白进行保守 motif 预测, 最大 motif 发现数量设定为 20 个, 其余参数采用默认值。整合上述结构域及保守 motif 位点信息, 运用 TBtools 软件[21]进行综合可视化图谱展示。

1.5 小麦 *TaABHD6* 基因共线性分析

为探究小麦 *TaABHD6* 基因的进化模式, 基于 TBtools 平台的 MCScanX 模块[22]分析家族成员间片段复制和串联重复事件。利用该软件的 MultipleSyntenyPlot 功能, 对小麦 *TaABHD6* 基因与其近缘物种大麦 *HvABHD6*、水稻 *OsABHD6*、玉米 *ZmABHD6* 以及拟南芥 *AtABHD6* 的同源基因间的基因组进行共线性分析。为评估基因的选择压力, 采用 K_aK_s_Calculator 软件计算非同义突变率(K_a)与同义突变率(K_s)的比值(K_a/K_s) [23]。

1.6 小麦 *TaABHD6* 基因的启动子顺式作用元件分析

为解析 *TaABHD6* 基因启动子区的调控元件特征, 利用 TBtools 软件从小麦全基因组序列中提取各家族成员起始密码子 ATG 上游 2000 bp 的启动子序列。将获得的启动子序列提交至 PlantCARE 在线数据库 (http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/)进行顺式作用元件的预测与分析。

1.7 小麦 TaABHD6 基因家族与籽粒相关性状的关联分析

基于 Wheat Union 1.0 数据库[24]的重测序数据, 鉴定不同小麦品种中 TaABHD6 家族成员的遗传变异位点。利用变异信息查询模块下载基因型, 其中, 上下游延伸长度均设置为 2000 bp。结合已公开的 122 份小麦种质资源的籽粒性状表型数据[25]和本实验室 305 份小麦材料表型数据, 利用 Excel 对基因不同单倍型的籽粒相关性状进行数据处理并进行 *t* 检验分析, 设定显著性阈值为 $P < 0.05$, 分析不同单倍型对籽粒相关性状的效应。

1.8 *TaABHD6-5* 基因 KASP 标记的开发与验证

使用 CTAB 法提取小麦两叶一心期幼苗叶片基因组 DNA [26], 经超微量分光光度计(祐宁, NanoOne)

检测, 选取 A260/A280 值约为 1.8 且质量合格的样品进行后续试验。针对 *TaABHD6-5* 基因启动子区–1045 bp 处的 SNP (A/T)位点, 设计并合成 KASP 基因分型引物。其中, 2 条等位基因特异性正向引物 5′端分别标记 FAM 与 VIC 荧光报告基团(表 3)。PCR 反应体系包含 2 μL 2×*Taq* DNA Polymerase Mix、1 μL 4×SNP Primer Mix 及 2 μL 模板 DNA。扩增程序: 94℃预变性 15 min; 随后进行 10 个循环的降落 PCR (94℃ 20 s, 退火温度从 61℃至 55℃, 每循环递减 0.6℃); 接着进行 37 个循环的扩增(94℃ 20 s, 55℃ 45 s)。反应结束后, 于 SNP 基因分型仪中采集荧光信号, 其中, ROX 被动参比染料用于校正孔间偏差。最终通过 Kluster Caller 软件(https://www.biosearchtech.com)对标准化后的荧光值进行聚类分析, 依据样本在 VIC/FAM 二维散点图中的分布判定其基因型(AA、TT 或杂合型)。

表 3　单倍型表达模式分析所用引物
Table 3　Primers used for haplotype expression pattern analysis

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5′–3′)
KASP-TaABHD6-F1	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTCGTGCCTGTTTGCGAGTATA
KASP-TaABHD6-F2	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCGTGCCTGTTTGCGAGTATT
KASP-TaABHD6-R	CTTGACAGTTGATGAATAGATCGG

1.9　小麦 *TaABHD6* 上游调控 miRNA 的预测

基于 psRNATarget 数据库(http://plantgrn.noble.org/psRNATarget/) 对 TaABHD6 家族成员进行 miRNA 靶位点鉴定, 序列数据源于 WheatOmics 平台(http://wheatomics.sdau.edu.cn/)。关键参数标准设定: 最大期望值(Expectation)设为 3, miRNA 与靶基因之间的互补匹配长度阈值设定为 20 nt[27]。为评估靶位点的可接近性, 允许解离靶位点的最大自由能上限为 25 kcal mol^{-1}; 在第 9 至 11 位碱基区间内严格要求完全互补, 不允许出现错配现象。

2　结果与分析

2.1　小麦 TaABHD6 基因家族成员的鉴定和染色体分布

基于拟南芥 AtABHD6 (3 个)、大麦 HvABHD6 (2 个)、水稻 OsABHD6 (3 个)和玉米 ZmABHD6 (3 个)蛋白序列, 通过隐马尔可夫模型(HMM)比对检索, 从小麦全基因组中筛选出 18 个 *ABHD6* 候选基因。利用 SMART 和 NCBI-CDD 软件对这些候选成员进行蛋白结构域验证分析。结果表明, 18 个成员均包含典型的 Abhydrolase-6 结构域, 因此被归类为小麦 ABHD6 基因家族成员。依据其在染色体上的物理位置, 将这些基因依次命名为 *TaABHD6-1* 至 *TaABHD6-18*。对 TaABHD6 蛋白的理化特性分析表明, 其氨基酸数量介于 227~334 aa 之间, 相对分子量范围为 25.53~37.20 kD, 理论等电点(pI)分布在 4.54~9.01 之间; 其中, 9 个蛋白的 pI 呈酸性, 另外 9 个则呈碱性。蛋白不稳定指数在 28.91~53.02 之间, 其中有 12 个成员的不稳定指数超过 40, 预示其稳定性相对较低。亲水性分析表明, 13 个 TaABHD6 蛋白均呈现亲水性。亚细胞定位预测结果显示, 该家族成员主要定位于叶绿体(8 个)和细胞质(9 个)中, 仅 TaABHD6-18 预测位于细胞外(表 4)。染色体定位分析表明, *TaABHD6* 基因在小麦的 A、B、D 3 个亚基因组上均有分布, 且在部分同源染色体上表现出明显的共线性分布特征(图 1)。

表 4　小麦 TaABHD6 基因家族
Table 4　Wheat TaABHD6 gene family

基因名称 Gene name	基因号 Gene ID	氨基酸数量 No. of amino acids (aa)	相对分子量 Molecular weight (kD)	等电点 Isoelectric point	不稳定指数 Instability index	亲水性 Hydrophilicity	亚细胞定位 Subcellular localization
TaABHD6-1	*TraesCS1A02G435000.1*	308	32.86	4.56	36.73	0.118	cyto
TaABHD6-2	*TraesCS1B02G470800.1*	309	32.87	4.64	38.74	0.175	cyto
TaABHD6-3	*TraesCS1D02G444100.1*	334	35.89	4.54	38.13	0.105	cyto
TaABHD6-4	*TraesCS2A02G163300.1*	332	36.94	8.80	48.61	0.023	cyto
TaABHD6-5	*TraesCS2A02G171000.1*	275	30.20	8.81	51.31	–0.036	chlo

(续表 4)

基因名称 Gene name	基因号 Gene ID	氨基酸数量 No. of amino acids (aa)	相对分子量 Molecular weight (kD)	等电点 Isoelectric point	不稳定指数 Instability index	亲水性 Hydrophilicity	亚细胞定位 Subcellular localization
TaABHD6-6	*TraesCS2B02G189100.1*	334	37.20	7.72	48.17	0.025	cyto
TaABHD6-7	*TraesCS2B02G197400.1*	314	34.67	7.82	53.02	–0.050	chlo
TaABHD6-8	*TraesCS2D02G170200.1*	334	37.09	8.58	49.18	–0.013	cyto
TaABHD6-9	*TraesCS2D02G178700.1*	314	34.59	7.03	49.82	–0.051	chlo
TaABHD6-10	*TraesCS3A02G538800.2*	260	28.92	5.19	33.54	–0.136	cyto
TaABHD6-11	*TraesCS3D02G545700.2*	260	29.10	5.29	28.91	–0.180	cyto
TaABHD6-12	*TraesCS4A02G010600.1*	324	35.56	5.92	45.22	–0.043	chlo
TaABHD6-13	*TraesCS4B02G293800.1*	307	33.62	6.08	46.19	–0.100	chlo
TaABHD6-14	*TraesCS4B02G293900.1*	325	35.24	7.78	41.47	–0.030	chlo
TaABHD6-15	*TraesCS4D02G292500.1*	322	35.50	6.09	49.03	–0.108	chlo
TaABHD6-16	*TraesCS4D02G292600.1*	322	35.29	5.54	42.11	–0.028	chlo
TaABHD6-17	*TraesCS4D02G292700.1*	320	34.92	8.54	38.01	–0.031	cyto
TaABHD6-18	*TraesCS5D02G425500.1*	227	25.53	9.01	47.97	–0.025	extr

cyto 代表细胞质; chlo 代表叶绿体; extr 代表胞外。cyto represents cytoplasm; chlo represents chloroplast; extr represents extracellular.

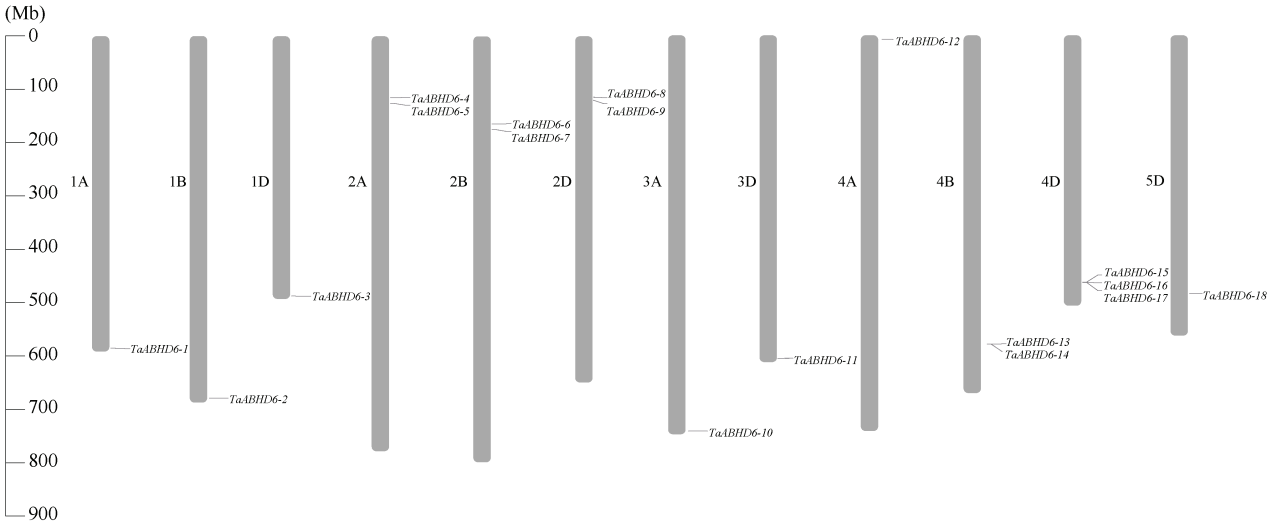

图 1 小麦 TaABHD6 基因家族在染色体上的定位
Fig. 1 Chromosomal localization of the TaABHD6 gene family in wheat

2.2 ABHD6 基因家族的系统进化

利用 3 个拟南芥、3 个水稻、3 个玉米、2 个大麦和 18 个小麦 ABHD6 蛋白序列构建系统发育树, 将 ABHD6 家族成员划分为 6 个亚族(Group I~VI) (图 2)。进化分析表明, 小麦 ABHD6 家族成员广泛分布于除 Group IV 以外的 5 个亚族中, 其中, Group I (绿色环带)、 Group II (红色环带)、 Group III (蓝色环带)和 Group V (淡粉色环带)主要由小麦基因构成。同一类群内的基因具有高度保守性, 例如, 在 Group II 内, *TaABHD6-1* 与 *TaABHD6-2* 之间分支长度极短, 且处于同一分支节点, 表明这些基因可能源于近期的基因复制事件。Group VI (粉红色环带)为混合亚族, 包含了小麦、水稻、玉米及大麦成员。在该亚族内部, 小麦 *TaABHD6* 基因(如 *TaABHD6-5* 、*TaABHD6-9*)与大麦 *HvABHD6* 亲缘关系最近, 聚为一支; *TaABHD6* 与水稻 *OsABHD6* 和玉米 *ZmABHD6* 亲缘关系次之。其中单子叶与双子叶植物分化明显。拟南芥 *AtABHD6* 基因独立聚于 Group IV (紫色环带), 与其他单子叶植物亲缘关系最远。

2.3 小麦 TaABHD6 基因家族成员的蛋白保守结构域和基因结构分析

对小麦 TaABHD6 基因家族中各亚家族成员结构分析结果表明, Group I 亚家族的所有基因均包含 2 个外显子和 1 个内含子; Group II 亚家族所有基因

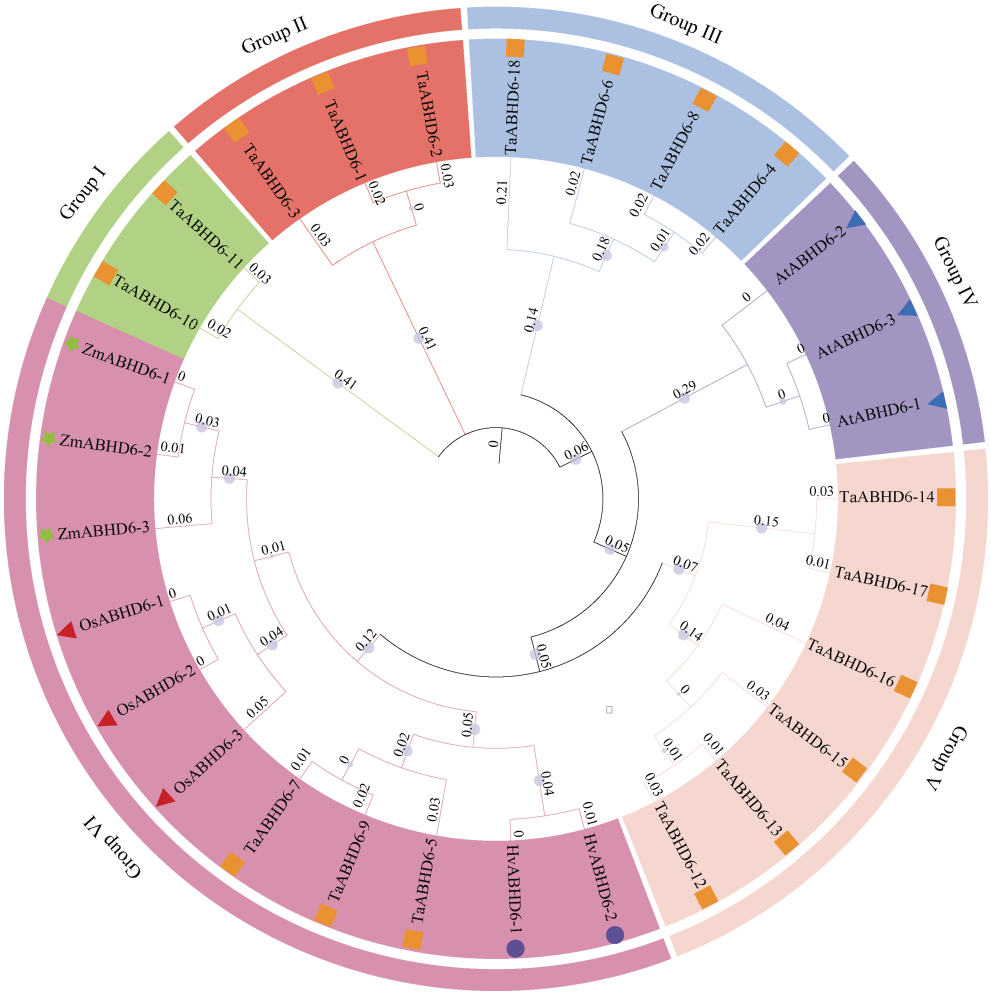

图 2　ABHD6 基因家族系统进化树分析

Fig. 2　Phylogenetic analysis of the ABHD6 gene family

不同颜色代表 ABHD6 基因家族的不同亚族。淡紫色圆形表示 bootstrap 值; 矩形代表小麦; 深紫色圆形代表大麦; 五角星代表玉米; 红色三角形代表水稻; 蓝色三角形代表拟南芥。

Different colors indicate different ABHD6 subfamilies. Light purple circles denote bootstrap support values. Rectangles represent wheat; dark purple circles represent barley; stars represent maize; red triangles represent rice; blue triangles represent *Arabidopsis*.

均包含 3 个外显子和 2 个内含子; Group VI 亚家族成员均包含 4 个外显子和 3 个内含子。在 Group III 亚家族中, 除 *TaABHD6-18* 外, *TaABHD6-4*、*TaABHD6-6* 和 *TaABHD6-8* 等 3 个基因均具有 6 个外显子和 5 个内含子; 而在 Group V 亚家族中, 除 *TaABHD6-13*、*TaABHD6-14* 和 *TaABHD6-17* 含有 5 个外显子及 4 个内含子外, 其余成员均具有 4 个外显子和 3 个内含子(图 3)。以上结果表明, 同一亚家族内大多数成员表现出相似的外显子-内含子结构, 暗示其可能具有保守的生物学功能; 而不同亚家族之间在内含子数量和长度上存在明显差异, 这种结构差异可能与其功能分化密切相关。

通过 MEME 软件在小麦 TaABHD6 家族成员中共鉴定出 20 个蛋白基序(Motifs), 部分基序存在于所有的成员中, 如 Motif 3, 这些基序可能构成 ABHD6 蛋白的核心功能域, 维持其基本的生化活性; 同时, 不同进化组的蛋白在基序组成上存在显著差异, 例如, Group I 蛋白特异性含有 Motif 16, 而 Group II 蛋白则特异性含有 Motif 17 (图 3)。

2.4　小麦 *TaABHD6* 基因共线性分析

物种内共线性分析结果显示, 在小麦基因组中共存在 11 个共线性基因对, 其中有 8 对在不同亚基因组的部分同源染色体上(图 4-A)。对小麦 *TaABHD6* 基因的 K_a/K_s 值进行计算, 结果均小于 1, 说明小麦 TaABHD6 基因家族成员在进化中受到纯化选择(表 5)。

为探究 ABHD6 基因家族在小麦与其他物种中的进化关系, 利用 MCScanX 寻找小麦和水稻、

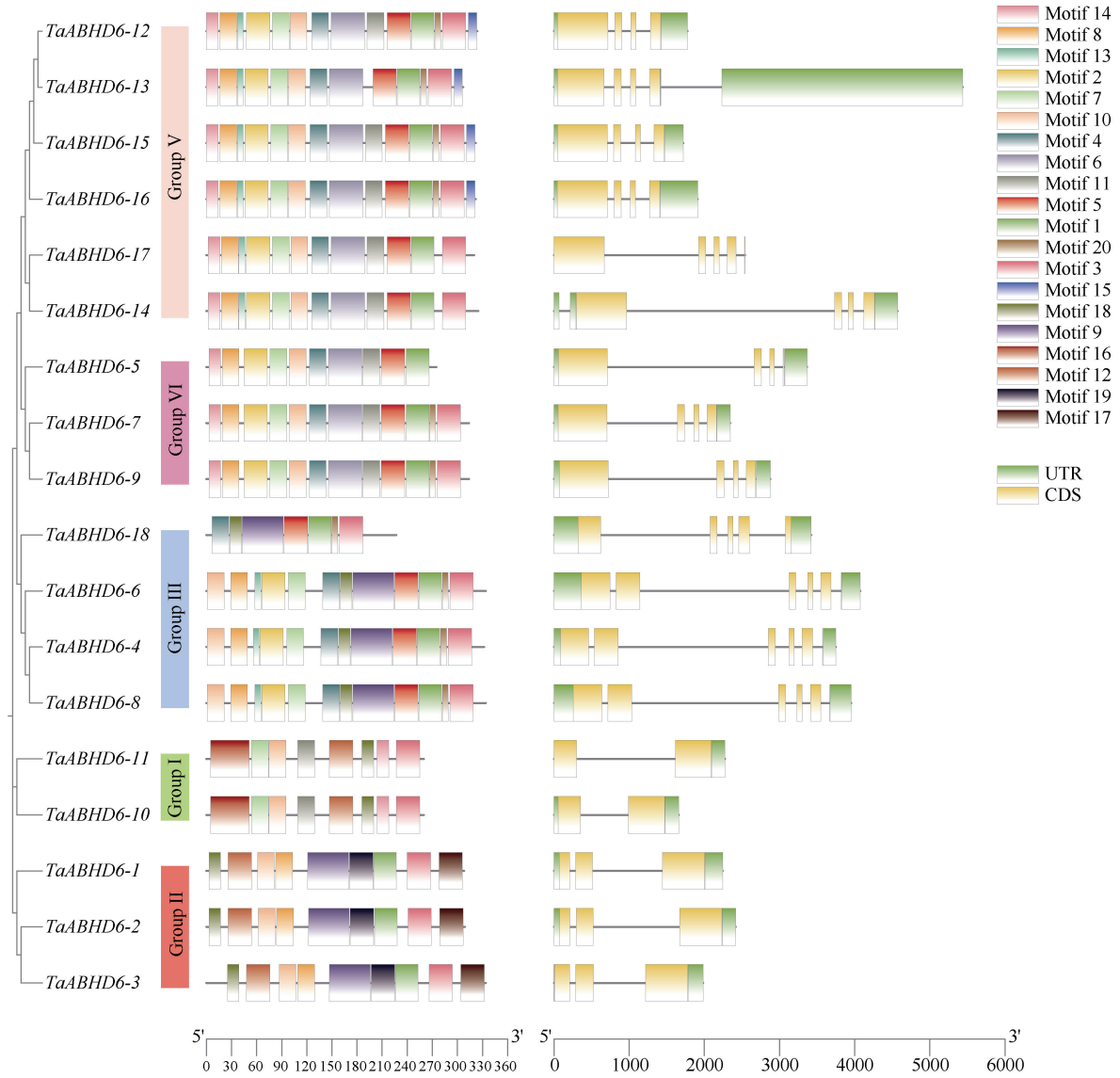

图 3 小麦 TaABHD6 基因家族成员的进化关系、保守基序和基因结构

Fig. 3 Evolutionary relationships, conserved motifs, and gene structure of TaABHD6 family members in wheat

表 5 小麦 TaABHD6 基因家族 K_a/K_s 分析

Table 5 K_a/K_s analysis of TaABHD6 gene family in wheat

基因 1 Gene 1	基因 2 Gene 2	非同义替换率 K_a	同义替换率 K_s	非同义替换率/同义替换率 K_a/K_s
TaABHD6-1	*TaABHD6-2*	0.029560476405657555	0.14576965151507500	0.20278896257497406
TaABHD6-1	*TaABHD6-3*	0.040760832579004340	0.13490226857082155	0.30215083119677527
TaABHD6-2	*TaABHD6-3*	0.030917036867965757	0.11045957175281135	0.27989459290275470
TaABHD6-4	*TaABHD6-6*	0.030353271379501870	0.06159789458113049	0.49276475415119300
TaABHD6-5	*TaABHD6-7*	0.014547673945103423	0.08534953822776796	0.17044818574508028
TaABHD6-4	*TaABHD6-8*	0.020418683960993462	0.07088605521155301	0.28804937586180734
TaABHD6-5	*TaABHD6-9*	0.021896701808340460	0.10876786590712034	0.20131590912189648
TaABHD6-5	*TaABHD6-15*	0.381523080690999900	1.00018318421061040	0.38145320448685116
TaABHD6-6	*TaABHD6-8*	0.028574884674202803	0.08796681489232491	0.32483709577503360
TaABHD6-7	*TaABHD6-9*	0.013050111753615083	0.07239658798238977	0.18025865744929140
TaABHD6-7	*TaABHD6-15*	0.382730436542767500	0.93268675733376540	0.41035260073474594

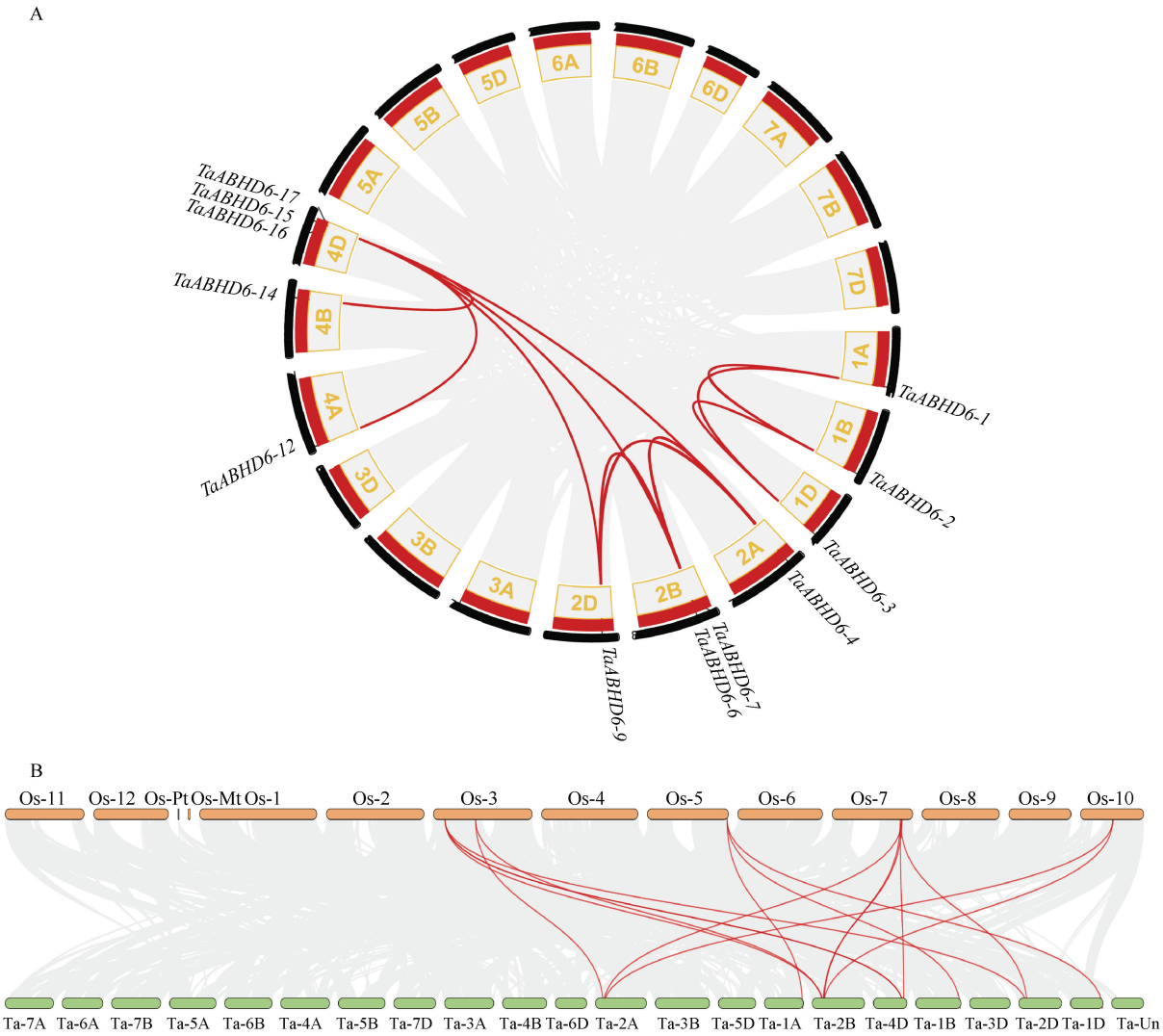

图 4　小麦 TaABHD6 基因家族共线性分析

Fig. 4　Collinearity analysis of the TaABHD6 gene family in wheat

A: TaABHD6 基因家族种内共线性分析; B: TaABHD6 基因家族种间共线性分析; 染色体标号前缀 Ta 代表普通小麦, Os 代表水稻。

A: intraspecific collinearity analysis of the TaABHD6 gene family; B: interspecific collinearity analysis of the TaABHD6 gene family; chromosome label prefixes Ta represent common wheat, and Os represent rice.

玉米、拟南芥基因组间的同源基因对, 并对这些物种的 *ABHD6* 基因进行同源性分析。结果表明, 在单子叶水稻中 5 个 *OsABHD6* 基因分别与小麦 13 个 *TaABHD6* 基因存在 14 个共线性基因对。而双子叶植物中均不含有与 *TaABHD6* 同源的基因(图 4-B)。以上结果表明, *TaABHD6* 基因在进化过程中可能经历保守的选择压力, 并在不同物种中维持相似的基因功能。

2.5　小麦 TaABHD6 基因家族启动子的顺式作用元件分析

对小麦 ABHD6 基因家族成员启动子区域顺式作用元件的分析表明, TaABHD6 基因家族启动子存在丰富的顺式作用元件, 这些元件在调控基因表达中具有关键作用。TaABHD6 基因家族启动子含有 19 个光响应元件(如 G-box、Sp1、Box4 等)、9 个激素响应元件(如 ABRE、TGACG-motif、CGTCA-motif 等)、5 个逆境胁迫响应元件(如 ARE、MBS、LTR 等)以及 8 个与生长发育相关的响应元件(如 RY-element、O2-site、GCN4_motif 等)。其中, G-box 元件在所有成员中均存在, ABRE 元件也广泛分布于各成员中, MBS 和 LTR 等胁迫响应元件在部分成员如 *TaABHD6-2*、*TaABHD6-8* 和 *TaABHD6-9* 中显著富集, 而有些生长发育响应元件如 RY-element 仅存在于 *TaABHD6-5*、*TaABHD6-8* 和 *TaABHD6-15* 中(图 5)。以上结果表明, TaABHD6 基因家族启动子中存在数量和类型多样的顺式作用元件, 这些元件可

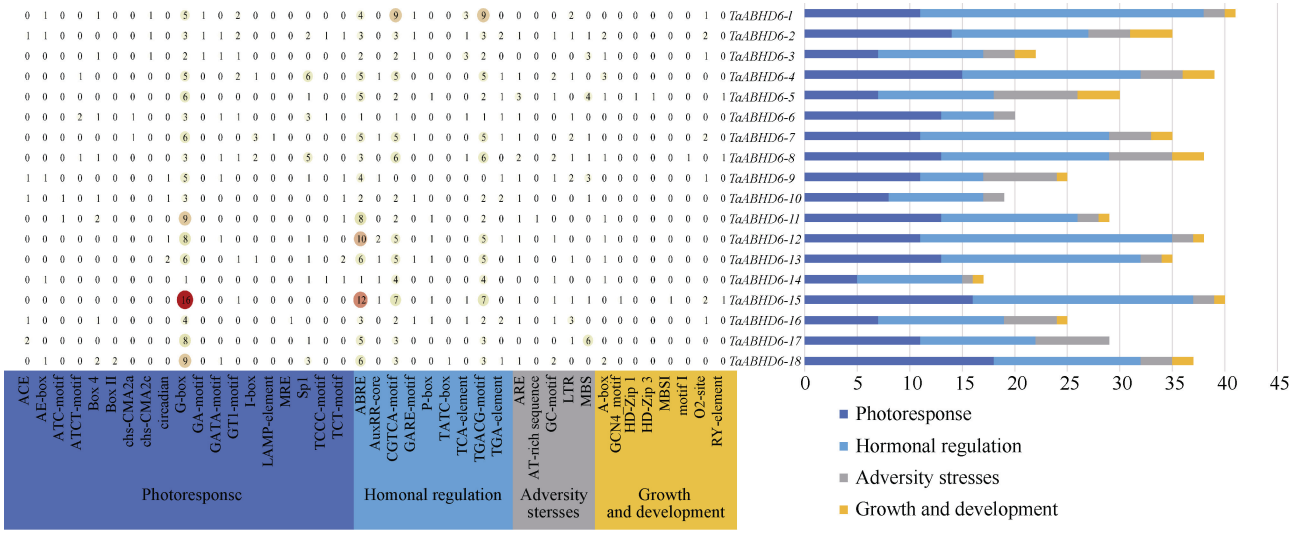

图 5 小麦 TaABHD6 基因家族启动子顺式作用元件

Fig. 5 *Cis*-acting elements in promoters of TaABHD6 gene family in wheat

能通过响应光信号、激素调节、环境胁迫及发育进程, 协同调控小麦生长发育过程中 *ABHD6* 基因的表达模式。

2.6 TaABHD6 基因家族单倍型与籽粒性状的关联分析

利用 Wheat Union 数据库中 122 份六倍体小麦重测序数据获取 *TaABHD6* 基因在不同小麦材料中的变异位点。共鉴定出 8 个存在不同单倍型的基因, 通过与 122 份小麦材料表型数据关联分析发现, 其中 3 个基因(*TaABHD6-1*、*TaABHD6-5* 及 *TaABHD6-7*)的不同单倍型和粒重数据关联(图 6-A~C)。在不同品种的单倍型分析中发现, *TaABHD6-1* 的启动子区域和编码区分别存在 4 个和 2 个 SNP 变异。关联分析显示, 这些变异与 3 个环境下的粒宽数据呈极显著关联($P < 0.01$), 与单个环境下的千粒重数据呈显著关联($P < 0.05$)。*TaABHD6-7* 的单倍型变异则与 1 个环境下的千粒重及 3 个环境下的粒宽数据表现出显著关联($P < 0.05$)。*TaABHD6-5* 的单倍型变异表现出更广泛的遗传效应。其与 3 个环境下的千粒重及粒宽、1 个环境下的粒长以及 2 个环境下的粒厚数据均呈极显著关联($P < 0.01$), 并与另外 2 个环境下的粒长数据呈显著关联($P < 0.05$) (图 6-D~F)。上述结果表明, ABHD6 基因家族多个成员均与小麦籽粒性状密切相关; 其中, *TaABHD6-5* 展现出最为广泛的性状关联性, 提示其在籽粒发育过程中可能发挥着关键调控作用。为探究 *TaABHD6-5* 基因是否与粒重数据相关联, 基于 *TaABHD6-5* 基因启动子区–1045 bp 处 SNP (A/T)位点开发 KASP 分子标记, 并对本实验室 305 份小麦材料进行检测, 结果表明, 该分子标记可将 305 份小麦材料分为 2 种单倍型, 其中, *TaABHD6-5*-HapI 单倍型品种 268 份, *TaABHD6-5*-HapII 单倍型品种 34 份, 杂合子 2 份, 分型失败 1 份(图 7-A)。

通过对 305 份小麦材料表型数据关联分析发现, 在 4 种环境下 *TaABHD6-5*-HapI 单倍型的千粒重显著高于 *TaABHD6-5*-HapII 单倍型($P < 0.05$); 对粒形相关性状进行分析表明, 在 3 种环境下 *TaABHD6-5*-HapI 单倍型的粒长显著高于 *TaABHD6-5*-HapII 单倍型($P < 0.05$); 在 5 种环境下 *TaABHD6-5*-HapI 单倍型的粒宽显著高于 *TaABHD6-5*-HapII 单倍型($P < 0.05$); 在 4 种环境下 *TaABHD6-5*-HapI 单倍型的籽粒大小显著高于 *TaABHD6-5*-HapII 单倍型($P < 0.05$) (图 7-B)。以上结果表明, *TaABHD6-5* 基因不同单倍型与籽粒发育相关, 该分子标记可在小麦分子标记辅助育种中加以利用。

2.7 *TaABHD6-5* 表达模式分析

为进一步验证 *TaABHD6-5* 是否在小麦籽粒发育中发挥作用, 对 *TaABHD6-5* 基因在不同组织时期的表达量进行了分析。结果表明, *TaABHD6-5* 在孕穗期的茎和穗中相对表达量高于其他组织, 在籽粒发育过程中, *TaABHD6-5* 的表达呈现明显的动态变化。*TaABHD6-5* 在授粉后 5 d 的籽粒中表达水平较高; 授粉后 10 d 与 15 d, 表达量下降并维持在中等水平; 而在授粉后 20 d 则急剧降低(图 8-A)。

鉴于 *TaABHD6-5* 基因 2 种单倍型与粒重显著关联且 SNP 位点主要位于启动子区域, 因此对 2 种单倍型材料中 *TaABHD6-5* 基因的表达模式进行分析, 结果显示, *TaABHD6-5* 基因在优异单倍型 *TaABHD6-5*-HapI 中的表达量显著低于 *TaABHD6-5*-HapII (图 8-B), 表明 *TaABHD6-5* 基因可能负调控小麦籽粒发育。

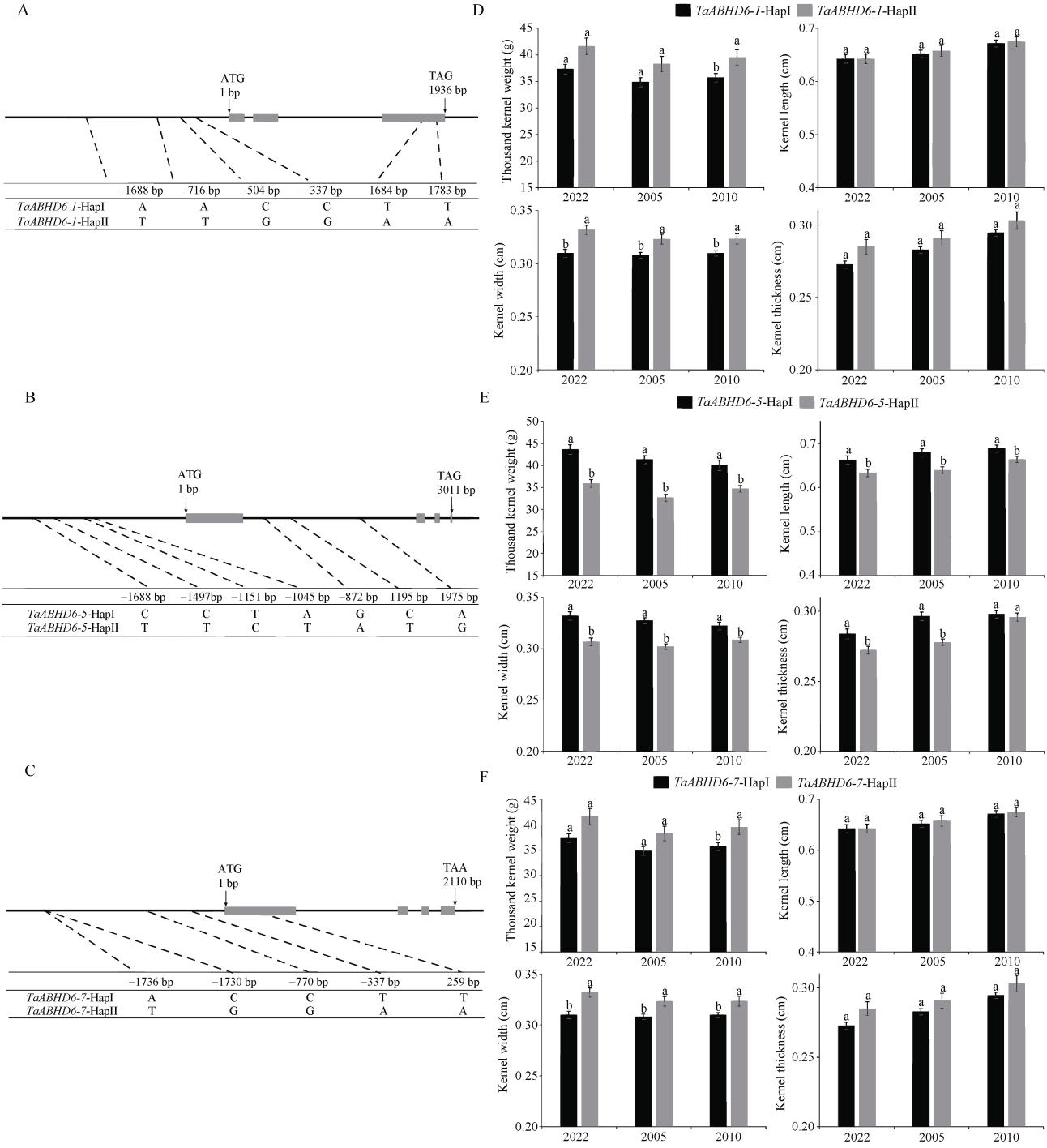

图 6　小麦 TaABHD6 基因家族结构及序列多态性分析和不同单倍型的关联分析

Fig. 6　Gene structure and sequence polymorphism of TaABHD6 genes and association analysis of haplotypes

A–C 分别表示小麦基因 *TaABHD6-1*、*TaABHD6-5* 和 *TaABHD6-7* 结构及序列多态性分析; D–F 分别表示小麦基因 *TaABHD6-1*、*TaABHD6-5* 和 *TaABHD6-7* 不同单倍型的关联分析。横坐标表示田间试验的 3 个年份(2002、2005 和 2010 年)。

A–C indicate gene structure and sequence polymorphism of *TaABHD6-1*, *TaABHD6-5*, and *TaABHD6-7*, respectively. D–F indicate association analysis of haplotypes of *TaABHD6-1*, *TaABHD6-5*, and *TaABHD6-7*, respectively. The x-axis indicates the three field trial years (2002, 2005, and 2010).

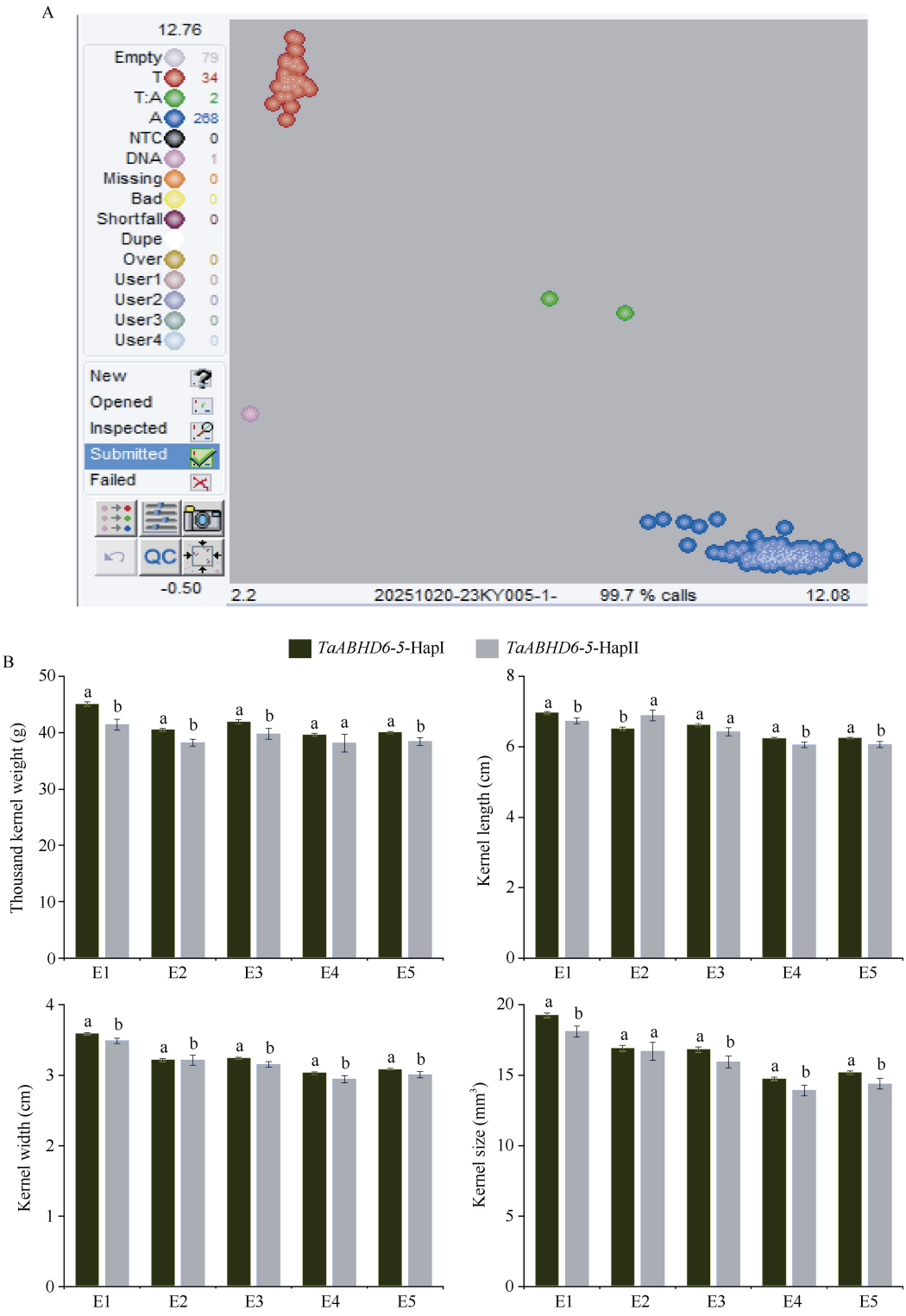

图 7 TaABHD6 基因家族单倍型与籽粒性状的关联分析

Fig. 7 Association analysis between TaABHD6 haplotypes and grain traits

A: *TaABHD6-5* 的 KASP 基因分型散点聚类图; B: 籽粒相关性状与 *TaABHD6-5* 不同单倍型的关联分析。红点、绿点和蓝点分别表示 *TaABHD6-5*-HapI 纯合子 TT、杂合子 AT、*TaABHD6-5*-HapII 纯合子 AA; E1–E5 分别代表 2020 年通渭、2021 年通渭旱地、2021 年通渭水地、2022 年通渭和 2022 年庄浪。

A: cluster plot of KASP genotyping for *TaABHD6-5*. B: associations between grain-related traits and *TaABHD6-5* haplotypes. Red, green, and blue dots indicate *TaABHD6-5*-HapI homozygotes (TT), heterozygotes (AT), and *TaABHD6-5*-HapII homozygotes (AA), respectively. E1–E5 denote Tongwei (2020), Tongwei dryland (2021), Tongwei irrigated (2021), Tongwei (2022), and Zhuanglang (2022), respectively.

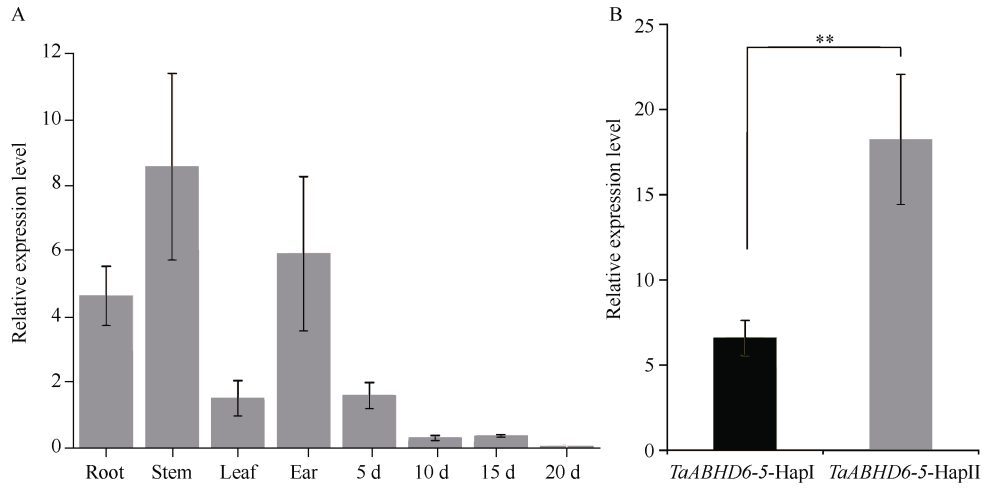

图 8　小麦 *TaABHD6-5* 时空表达模式及单倍型表达差异分析

Fig. 8　Spatiotemporal expression of *TaABHD6-5* and expression differences between haplotypes

A: *TaABHD6-5* 在小麦不同组织及不同籽粒发育时期的表达模式; 5、10、15 和 20 d 分别代表授粉后第 5、10、15 和 20 天的籽粒; B: *TaABHD6-5* 在 2 种不同单倍型间的表达水平差异分析; **表示与 *TaABHD6-5*-HapI 相比差异极显著($P < 0.01$); 用于不同单倍型表达量分析的材料包括 5 份 *TaABHD6-5*-HapI 品种(XN30、XN37、XN38、XN41、XN68)和 5 份 *TaABHD6-5*-HapII 品种(XN46、XN151、XN156、XN171、XN203)。

A: expression patterns of *TaABHD6-5* across wheat tissues and during grain development; 5, 10, 15, and 20 d indicate grains at 5, 10, 15, and 20 days after pollination, respectively. B: comparison of *TaABHD6-5* expression between two haplotypes; ** indicates a highly significant difference relative to *TaABHD6-5*-HapI ($P < 0.01$). Varieties used for haplotype expression analysis included five *TaABHD6-5*-HapI accessions (XN30, XN37, XN38, XN41, XN68) and five *TaABHD6-5*-HapII accessions (XN46, XN151, XN156, XN171, XN203).

2.8　*TaABHD6-5* 启动子及其 miRNA 序列调控元件鉴定

鉴于 *TaABHD6-5* 基因不同单倍型与粒重显著关联，为探究 *TaABHD6-5* 可能的调控机制，对 *TaABHD6-5* 基因启动子区域及 miRNA 序列的结合调控元件进行分析。对启动子区域顺式作用元件分析发现，其含有 7 个光响应元件、11 个激素响应元件、8 个逆境胁迫响应元件以及 4 个生长发育响应元件(图 5-A)。但不同单倍型中的 SNP 变异并未引起调控元件的变化。对 *TaABHD6-5* 基因的 miRNA 序列进行分析表明, *TaABHD6-5* 基因在 3'-UTR 区存在一个 miRNA 结合位点，psRNATarget 预测显示为 tae-miR160 (图 9-A)。通过对降解组测序结果进行分析，在 *TaABHD6-5* 转录本的第 868 位核苷酸处检测到一个明显的降解信号峰，表明 *TaABHD6-5* 受 tae-miR160 调控(图 9-B)。

3　讨论

ABHD6 蛋白家族隶属于 α/β 水解酶超家族，该超家族是一类在动植物中广泛分布且具有重要功能的酶类，主要参与植物细胞壁重塑、激素感知与降解以及响应非生物胁迫等生物学过程[28-30]。然而，目前关于小麦 ABHD6 基因家族的研究仍较为有限，其在籽粒发育过程中的具体功能尚不清楚。本研究

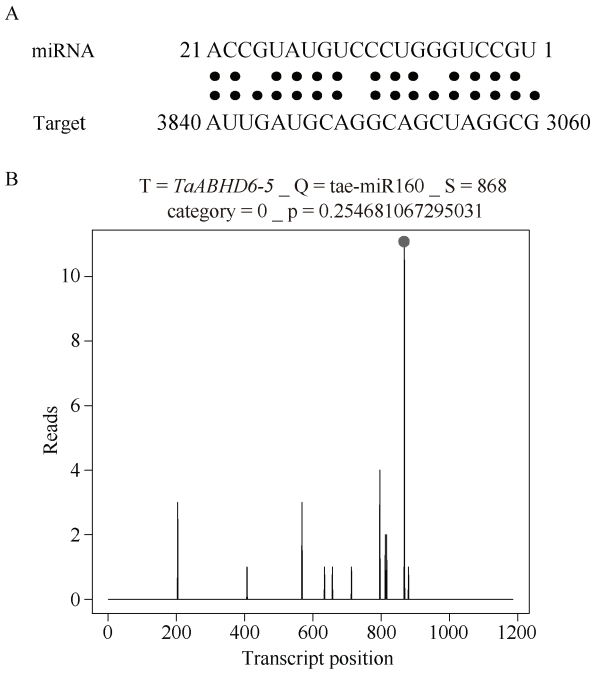

图 9　*TaABHD6-5* 序列调控元件分析

Fig. 9　Regulatory element analysis of *TaABHD6-5*

A: 小麦 *TaABHD6-5* 上游 miRNA 的生物信息学预测; B: tae-miR160 介导的 *TaABHD6-5* 转录本切割的降解组分析。

A: bioinformatic prediction of miRNAs targeting wheat *TaABHD6-5*. B: degradome evidence for tae-miR160-mediated cleavage of the *TaABHD6-5* transcript.

运用生物信息学方法在小麦中鉴定出 18 个 *TaABHD6* 基因。通过与其他物种的 ABHD6 蛋白序列构建系统发育树, 将这些基因划分为 6 个亚家族。系统发育分析表明, 单子叶植物(小麦、水稻、玉米和大麦)与双子叶植物(拟南芥)的 ABHD6 蛋白形成清晰的独立分支, 提示这 2 类植物中的 *ABHD6* 基因可能经历不同的进化路径, 这一分类结果与前期在油菜(*Brassica napus*)中对 α/β 水解酶折叠超家族的研究一致[31], 支持 *ABHD6* 基因在进化过程中可能通过基因复制事件产生功能分化的推测, 表明不同物种以差异化的进化速率演化出新的基因拷贝, 进而产生不同的生物学功能[32]。这种进化模式在其他植物基因家族的研究中也有体现。例如, DUF668 基因家族在单子叶植物与双子叶植物中经历了不同的进化路径[33], 以及小麦 SBP-box 基因家族在所有染色体上广泛分布且在进化上表现出多样性[34]。尽管该基因家族成员在保守基序、结构域排布及结构上表现出高度的同源性与保守性, 但其理化性质却存在显著差异, 预示着它们可能参与小麦不同发育阶段的多样化生物学过程。这种结构保守性与功能多样性的结合在其他基因家族中也普遍存在。例如, 在小麦氨基酸转运蛋白基因家族中, 尽管其结构保守, 但通过生物信息学分析仍能识别出大量基因并推断其功能多样性[35]。亚细胞定位预测分析显示, 小麦中 40%的 TaABHD6 蛋白定位于叶绿体中, 因蛋白质的功能往往与其在细胞内的精确位置密切相关, 推测该家族成员可能在叶绿体相关的物质合成代谢通路中扮演重要角色[36]。

对小麦 TaABHD6 家族成员中的蛋白基序进行分析表明, 该基因家族在进化过程中通过结构域的变异实现功能分化。保守基序的亚家族特异性分布与系统发育分组高度一致(如 Group I 和 Group II 所特有的 Motif), 这为单子叶植物 *ABHD6* 基因的功能分化提供结构层面的证据。不同进化组的基因在基序组成上存在显著差异, 这可能导致各亚家族成员在底物识别、蛋白互作或亚细胞定位等方面的功能特异性。结合小麦基因组特性分析, 位于部分同源染色体(如 1A、1B 和 1D)上的 *TaABHD6* 基因可能通过保留或丢失特定基序, 从而实现精细调控。基因结构的比较分析同样支持这一结论, 同一亚家族成员具有保守的外显子-内含子结构, 暗示其功能相似性; 而不同亚家族间的结构差异则揭示该家族内可能存在功能分化。这与油菜 BnFAR1/FHY3 基因家族的结构分析结果一致[37]。

基因复制事件是驱动小麦基因家族进化及新功能获得的重要机制[38]。本研究共鉴定出 11 对 *TaABHD6* 共线性基因, 其中 8 对分布在不同亚基因组的部分同源染色体上, 且 K_a/K_s 值均小于 1, 表明其受纯化选择压力主导, 对小麦生长发育具有重要作用[39]。物种间共线性分析结果表明, 小麦 TaABHD6 基因家族成员与双子叶植物拟南芥 AtABHD6 基因家族成员系统发育关系较远, 与单子叶植物水稻 OsABHD6 基因家族成员系统发育关系更为密切, 从基因组结构层面为单子叶植物与双子叶植物 *ABHD6* 基因的分化式进化提供独立证据, 并与系统发育分析的结论相互印证。综上所述, TaABHD6 基因家族的进化模式揭示了小麦基因组应对复杂进化压力的策略, 即通过基因复制建立遗传冗余, 在纯化选择中维持核心功能的基础上, 利用序列或结构的微调实现功能特化, 从而参与小麦生长发育等特定生物学过程。

启动子区域的顺式作用元件与基因功能及其调控机制紧密关联[40]。因此, 解析基因启动子区的顺式作用元件构成对于理解其转录调控机制及潜在的生物学功能至关重要。植物基因启动子区普遍含有水杨酸、脱落酸响应元件及 MYB 结合位点。以玉米 *ZmBADH* 和 *ZmMAPK* 为例, 基因启动子区域顺式作用元件的富集揭示了其在协助植物应对环境胁迫及调控生长发育过程中发挥的关键作用[41]。对 *TaABHD6* 启动子区的顺式作用元件分析揭示, 其包含多种与生长发育、光响应及激素调控相关的顺式作用元件。其中, G-box 元件的丰度最高, 该元件已被证实在小麦籽粒发育及产量性状的调控中扮演关键角色[42]。综合启动子顺式作用元件特征与表达谱信息, 推测 *TaABHD6* 基因广泛参与小麦生长发育调控, 并在籽粒发育过程中发挥关键作用。

通过分析 Wheat Union 数据库中的 122 份六倍体小麦重测序数据, 本研究揭示了 TaABHD6 基因家族的自然变异, 其中, *TaABHD6-5* 基因的单倍型多态性对小麦籽粒性状具有显著的调控效应。在 305 份小麦自然群体中, 基于启动子区 SNP 位点开发的 KASP 标记将其分为 2 种单倍型(*TaABHD6-5*-HapI 与 *TaABHD6-5*-HapII), *TaABHD6-5*-HapI 为优异单倍型。关联分析进一步表明, 单倍型 *TaABHD6-5*-HapI 在多环境下与千粒重、粒长、粒宽及籽粒大小显著相关。因此, 其分子标记具备应用于小麦籽粒性状改良育种的潜力。基于 2 个独立的自然群体(122 份与 305 份材料)的验证分析一致表明, 在多种环境下,

TaABHD6-5-HapI 单倍型的千粒重、粒长与粒宽等关键产量构成因素均优于 *TaABHD6-5*-HapII 单倍型。造成 2 种单倍型材料表型差异的关键单核苷酸多态性(SNP)位点位于基因启动子区域, 对不同单倍型材料中 *TaABHD6-5* 表达模式分析表明, 在优异单倍型 *TaABHD6-5*-HapI 中 *TaABHD6-5* 的表达量显著低于单倍型 *TaABHD6-5*-HapII, 推测该 SNP 位点可能通过影响顺式作用元件的结合, 进而调控 *TaABHD6-5* 的转录活性。组织表达模式分析表明, *TaABHD6-5* 在籽粒发育初期高表达, 且随籽粒发育逐渐降低, 因此推测该基因可能对小麦籽粒性状存在负调控作用, 这与水稻育种中对 *GS5* 和 *GW5* 等基因优良等位基因的选择策略一致[43], 表明 *ABHD6* 基因在作物籽粒发育调控网络中可能扮演着保守而重要的角色。但本研究尚未进行基因功能的直接验证, 后续将通过转基因或基因编辑手段在模式植物或小麦中开展功能互补试验。本研究开发的与 *TaABHD6-5* 紧密连锁的分子标记, 为小麦高产优质育种的辅助选择提供了有价值的工具, 通过在育种早期筛选并富集该优良单倍型, 有望加速小麦产量与品质遗传改良的进程。

通过对 *TaABHD6-5* 基因启动子区域的顺式作用元件分析, 发现其富含与光响应、生长发育及激素调节相关的调控元件, 该基因可能在小麦籽粒发育过程中受到多重环境与内源信号的精细调控, 但其 SNP 位点并不存在相关转录因子的结合位点, 推测该基因可能在转录后水平受到调控。对靶向 *TaABHD6* 的 miRNA 进行分析, 通过生物信息学方法预测和降解组测序验证发现, *TaABHD6-5* 是小麦 miR160 的直接靶标。鉴于籽粒发育是一个复杂的生物学过程, 涉及碳水化合物、蛋白质和脂质的积累, 并且脂质代谢在其中扮演着关键角色[44]。因此, 推测 miR160-*TaABHD6-5* 可能构成一个新的调控模块。miR160 通过切割 *TaABHD6-5* 的 mRNA 来精细调控其表达水平, 进而可能影响 ABHD6 蛋白参与的脂质代谢或信号转导过程, 从而调控籽粒发育。该结果与现有报道中关于 miRNA 在作物籽粒发育过程中扮演关键调控角色的普遍认识一致[45]。这一发现为理解 *ABHD6* 基因在小麦籽粒发育中的功能提供了新的视角。

4　结论

本研究在全基因组范围内对小麦 ABHD6 基因家族进行鉴定, 共识别出 18 个 TaABHD6 家族成员。分析表明, 该家族成员在进化上高度保守, 且启动子区富含参与小麦生长发育的顺式作用元件。通过对 TaABHD6 基因家族成员的基因组多态性及其与籽粒表型关联的分析, 鉴定出 8 个存在不同单倍型的基因, 其中 3 个 *TaABHD6* 基因的不同单倍型与籽粒发育时期数据存在显著关联, 基于 2 个独立自然群体(122 份与 305 份)的表型鉴定, 发现启动子区关键 SNP 位点可将 *TaABHD6-5* 分为 *TaABHD6-5*-HapI 和 *TaABHD6-5*-HapII 两种单倍型。关联分析表明, *TaABHD6-5*-HapI 在千粒重、粒长及粒宽上均显著优于 *TaABHD6-5*-HapII。针对该位点开发的 KASP 标记可有效用于分子辅助育种。表达模式分析发现, *TaABHD6-5* 在孕穗期的茎、穗及籽粒发育初期表达较高; 不同单倍型间, 优异单倍型 *TaABHD6-5*-HapI 的表达量显著低于 *TaABHD6-5*-HapII, 暗示 *TaABHD6-5* 可能对籽粒优异性状存在负调控作用。对 *TaABHD6-5* 的 3'-UTR 区通过生物信息学方法预测和降解组测序验证, miR160 通过特异性靶向 *TaABHD6-5*, 构成了 miR160-*TaABHD6-5* 调控模块。该结果为深入解析 *TaABHD6* 的作用机制奠定了理论基础, 并为小麦高产优质性状的遗传改良及新品种选育提供参考。

References

[1] Tadesse W, Sanchez-Garcia M, Assefa S G, et al. Genetic gains in wheat breeding and its role in feeding the world. Crop Breed Genet Genom, 2019, 1: e190005.

[2] Zakharova N N, Zakharov N G. Wheat grain production in the world and its dynamics. E3S Web Conf, 2024, 480: 03001.

[3] Thungo Z, Shimelis H, Odindo A, et al. Genetic gain for agronomic, physiological, and biochemical traits and quality attributes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.): a meta-analysis. Euphytica, 2021, 217: 119.

[4] Mindrebo J T, Nartey C M, Seto Y, et al. Unveiling the functional diversity of the alpha/beta hydrolase superfamily in the plant Kingdom. Curr Opin Struct Biol, 2016, 41: 233–246.

[5] Jochens H, Hesseler M, Stiba K, et al. Protein engineering of α/β-hydrolase fold enzymes. ChemBioChem, 2011, 12: 1508–1517.

[6] Rauwerdink A, Kazlauskas R J. How the same core catalytic machinery catalyzes 17 different reactions: the serine-histidine-aspartate catalytic triad of α/β-hydrolase fold enzymes. ACS Catal, 2015, 5: 6153–6176.

[7] Du H, Chang Y, Huang F, et al. GID1 modulates stomatal response and submergence tolerance involving abscisic acid and gibberellic acid signaling in rice. J Integr Plant Biol, 2015, 57: 954–968.

[8] Wang Y P, Tang S Q, Chen H Z, et al. Identification and molecular mapping of indica high-tillering dwarf mutant htd4, a mild phenotype allelic mutant of D14 in rice (*Oryza sativa* L.). Plant

Biol, 2017, 19: 851–858.
[9] White A R F, Mendez J A, Khosla A, et al. Rapid analysis of strigolactone receptor activity in a Nicotiana benthamiana dwarf14 mutant. Plant Direct, 2022, 6: e389.
[10] Xiong X Y, Yang C J, Jin Y T, et al. ABHD6 suppresses colorectal cancer progression *via* AKT signaling pathway. Mol Carcinog, 2024, 63: 647–662.
[11] Poursharifi P, Madiraju S R M, Prentki M. Monoacylglycerol signalling and ABHD6 in health and disease. Diabetes Obes Metab, 2017, 19: 76–89.
[12] Lian Y K, Lian C F, Wang L, et al. SUPPRESSOR OF MAX2-lIKE 6, 7, and 8 interact with DDB1 BINDING WD REPEAT DOMAIN HYPERSENSITIVE TO ABA DEFICIENT 1 to regulate the drought tolerance and target *SUCROSE NONFERMENTING 1 RELATED PROTEIN KINASE 2.3* to abscisic acid response in *Arabidopsis*. Biomolecules, 2023, 13: 1406.
[13] Zou Q M, Zhao L Y, Guan L R, et al. Genomic insights into assembly of α-β hydrolase superfamily genes involved in blast resistance in rice. Plant Sci, 2025, 359: 112605.
[14] Abrouk M, Athiyannan N, Müller T, et al. Population genomics and haplotype analysis in spelt and bread wheat identifies a gene regulating glume color. Commun Biol, 2021, 4: 375.
[15] Kaur B, Mavi G S, Gill M S, et al. Utilization of KASP technology for wheat improvement. Cereal Res Commun, 2020, 48: 409–421.
[16] Yang L, Zhao D H, Meng Z L, et al. QTL mapping for grain yield-related traits in bread wheat via SNP-based selective genotyping. Theor Appl Genet, 2020, 133: 857–872.
[17] Irshad A, Guo H J, Ur Rehman S, et al. Identification of single nucleotide polymorphism in TaSBEIII and development of KASP marker associated with grain weight in wheat. Front Genet, 2021, 12: 697294.
[18] Ur Rehman S, Wang J Y, Chang X P, et al. A wheat protein kinase gene *TaSnRK2.9-5A* associated with yield contributing traits. Theor Appl Genet, 2019, 132: 907–919.
[19] Steinegger M, Meier M, Mirdita M, et al. HH-suite3 for fast remote homology detection and deep protein annotation. BMC Bioinform, 2019, 20: 473.
[20] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. Mol Biol Evol, 2021, 38: 3022–3027.
[21] Kirchberger S, Tjaden J, Ekkehard Neuhaus H. Characterization of the *Arabidopsis* Brittle1 transport protein and impact of reduced activity on plant metabolism. Plant J, 2008, 56: 51–63.
[22] Wang Y P, Tang H B, DeBarry J D, et al. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity. Nucleic Acids Res, 2012, 40: e49.
[23] Zhang Z, Li J, Zhao X Q, et al. K_aK_s_Calculator: calculating K_a and K_s through model selection and model averaging. Genom Proteom Bioinform, 2006, 4: 259–263.
[24] Ma S W, Wang M, Wu J H, et al. WheatOmics: a platform combining multiple omics data to accelerate functional genomics studies in wheat. Mol Plant, 2021, 14: 1965–1968.
[25] Ma L, Li T, Hao C Y, et al. *TaGS5-3A*, a grain size gene selected during wheat improvement for larger kernel and yield. Plant Biotechnol J, 2016, 14: 1269–1280.
[26] Masoodi K Z, Lone S M, Rasool R S. Introduction to molecular biology techniques. In: Advanced Methods in Molecular Biology and Biotechnology. Amsterdam: Elsevier, 2021. pp 37–44.
[27] Zhang B H, Pan X P, Wang Q L, et al. Identification and characterization of new plant microRNAs using EST analysis. Cell Res, 2005, 15: 336–360.
[28] Alashoor K F, Wang J Y, Al-Babili S. The role of hydrolysis in perceiving and degrading the plant hormone strigolactones. Trends Biochem Sci, 2024, 49: 1039–1041.
[29] Bian Z, Wang D L, Liu Y S, et al. Analysis of *Populus* glycosyl hydrolase family I members and their potential role in the ABA treatment and drought stress response. Plant Physiol Biochem, 2021, 163: 178–188.
[30] Jiang Y, Qin R D, Wang Y Q, et al. Identification and expression profiles of xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase family in response to drought stress in *Larix kaempferi*. Plants, 2025, 14: 1882.
[31] Ding Y H, Feng L Q, Li P, et al. The alpha/beta-hydrolase fold superfamily in *Brassica napus*: expression profiles and functional implications of clade-3 BnABH proteins in response to abiotic stress. Int J Mol Sci, 2025, 26: 4746.
[32] Ali Z, Raza Q, Atif R M, et al. Genetic and molecular control of floral organ identity in cereals. Int J Mol Sci, 2019, 20: 2743.
[33] Yin X H, Yuan Y, Han X W, et al. Genome-wide identification, characterization, and expression profiling of TaDUF668 gene family in *Triticum aestivum*. Agronomy, 2023, 13: 2178.
[34] Li Y, Song Q L, Zhang Y M, et al. Genome-wide identification, characterization, and expression patterns analysis of the SBP-box gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.). Sci Rep, 2020, 10: 17250.
[35] Tian R Z, Yang Y, Chen M H. Genome-wide survey of the amino acid transporter gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.): identification, expression analysis and response to abiotic stress. Int J Biol Macromol, 2020, 162: 1372–1387.
[36] Millar A H, Carrie C, Pogson B, et al. Exploring the function-location nexus: using multiple lines of evidence in defining the subcellular location of plant proteins. Plant Cell, 2009, 21: 1625–1631.
[37] Han Y K, Cheng H F, Jiang Y L, et al. Identification and characterization of the BnFAR1/FHY3 gene family and expression analysis under shading and low-temperature responses in *Brassica napus* L. Agronomy, 2024, 14: 202.
[38] Schilling S, Kennedy A, Pan S R, et al. Genome-wide analysis of MIKC-type MADS-box genes in wheat: pervasive duplications, functional conservation and putative neofunctionalization. New Phytol, 2020, 225: 511–529.
[39] Stern A, Doron-Faigenboim A, Erez E, et al. Selecton 2007: advanced models for detecting positive and purifying selection using a Bayesian inference approach. Nucleic Acids Res, 2007, 35: W506–W511.
[40] DeFraia C, Mou Z L. The role of the Elongator complex in plants. Plant Signal Behav, 2011, 6: 19–22.
[41] Maghraby A, Alzalaty M. Genome-wide identification, characterization and evolutionary analysis of betaine aldehyde dehydrogenase (*BADH*), mitogen-activated protein kinase (*MAPK*)

and sodium/hydrogen exchanger (*NHX*) genes in maize (*Zea mays*) under salt stress. Genet Resour Crop Evol, 2024, 71: 4855–4870.

[42] Li W J, He X, Chen Y, et al. A wheat transcription factor positively sets seed vigour by regulating the grain nitrate signal. New Phytol, 2020, 225: 1667–1680.

[43] Xin W, Chen N, Wang J Q, et al. Candidate gene analysis of rice grain shape based on genome-wide association study. Theor Appl Genet, 2024, 137: 241.

[44] Na Z, Yuan Z, Jing W, et al. Seed development, lipid accumulation and its relationship with carbohydrates and protein in *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. Bull Bot Res, 2015, 35: 133–140.

[45] Zhang Y C, Yuan C, Chen Y Q. Noncoding RNAs and their roles in regulating the agronomic traits of crops. Fundam Res, 2023, 3: 718–726.