

网络出版时间: 2026-03-31

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20260330.1611.004>

小麦*TaDGAT* 基因克隆及其在花药发育中的潜在功能分析

陈昌静^{1,2}, 英圣凯², 徐盈盈², 翟诺², 刘子涵², 刘永杰²,
张立平^{1,2}, 廖祥政², 孙清鹏¹, 白建芳²

(1. 北京农学院植物科学技术学院, 北京 102206; 2. 北京市农林科学院杂交小麦研究所, 北京 100097)

摘要: 为探究二酰甘油酰基转移酶(diacylglycerol acyltransferase, DGAT) 在小麦光温敏雄性不育系花药发育中的潜在功能, 以小麦光温敏核雄性不育系 BS366 为材料, 根据前期转录组测序结果筛选出 *TaDGAT* (TraesCS1A02G125300) 基因, 在 BS366 中克隆获得拷贝序列, 利用生物信息学分析预测 *TaDGAT* 基因及其编码蛋白质的结构与功能特征。结果表明, 该基因开放阅读框(ORF) 为 1 542 bp, 共编码 513 个氨基酸, 根据蛋白质结构推测该蛋白为 O-酰基转移酶。经过多序列比对与系统发育树分析, 该基因(蛋白) 在小麦与大麦中亲缘关系最近, 且 miR398、miR169 等 miRNAs 可能与 *TaDGAT* 互作参与脂代谢过程, 进而调控花药发育; 该蛋白主要与 O-酰基转移酶等脂质代谢途径中的关键蛋白互作。亚细胞定位预测 *TaDGAT* 位于细胞膜和高尔基体, 参与生物膜的形成。经表达模式分析, *TaDGAT* 在各组织均有表达; 其在可育环境下的花药中表达不高, 但在不育环境则高表达, 说明该基因与花粉形成密切相关。本试验结果为研究 *DGAT* 基因在小麦中的功能提供一定的参考。

关键词: 小麦; 光温敏雄性不育; DGAT; 表达分析; 荧光定量 PCR

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2026)05-0604-09

Cloning of *TaDGAT* and Analysis of Its Potential Function in Anther Development in Wheat

CHEN Changjing^{1,2}, YING Shengkai², XU Yingying², ZHAI Nuo², LIU Zihan², LIU Yongjie²,
ZHANG Liping^{1,2}, LIAO Xiangzheng², SUN Qingpeng¹, BAI Jianfang²

(1. College of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China;

2. Institute of Hybrid Wheat Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing, 100097, China)

Abstract: To explore the potential function of diacylglycerol acyltransferase (DGAT) in the development of anther, the wheat photothermo-sensitive male sterile line BS366 was used as the material. Based on previous transcriptome sequencing results, *TaDGAT* (TraesCS1A02G125300) was screened and cloned from BS366. Bioinformatics analysis was employed to predict the structural and functional characteristics of the *TaDGAT* gene and its encoded protein. The results indicated that the gene has an open reading frame (ORF) of 1 542 bp, encoding 513 amino acids. Based on protein structure, the protein was predicted to be an O-acyltransferase. Multiple sequence alignment and phylogenetic tree analysis revealed that *TaDGAT* is most closely related to those in wheat and barley. Additionally, miRNAs, such as miR398 and miR169, were found to potentially interact with *TaDGAT*, participating in lipid metabolism processes and thereby regulating anther development. Protein-protein interaction predictions identified key interactions with O-acyltransferase and other critical proteins in lipid

收稿日期: 2025-10-31 修回日期: 2026-01-20

基金项目: 北京市农林科学院储备项目(KJCX20230402); 北京市农林科学院院攻关项目(KJCX20251004); 北京市农林科学院探索项目(TSXM202520)

第一作者 E-mail: 13386735365@189.cn(陈昌静); sky1999517@163.com(英圣凯)

通讯作者 E-mail: sunqp@bua.edu.cn(孙清鹏); baijianfang131@163.com(白建芳)

metabolism pathways. Subcellular localization prediction indicated that *TaDGAT* is located in the cell membrane and Golgi apparatus, where it participates in the formation of biological membranes. Expression pattern analysis showed that the expression of *TaDGAT* in different tissues, the level in anthers is low, while it is highly expressed under sterile conditions. This also suggested that the gene is closely related to pollen formation. This study provides certain references for elucidating the function of the *DGAT* gene in wheat.

Keywords: Wheat; Photothermal-sensitive male sterility; *DGAT*; Expression analysis; Fluorescence quantitative PCR

植物油脂主要以三酰甘油(triacylglycerol, TAG)的形式储藏在种子中,是一种由一分子甘油和三分子脂肪酸组成的甘油酯类化合物^[1]。对于植物而言,油脂是种子萌发和幼苗形态建成的主要能量来源^[2-3],其代谢过程中产生的代谢产物也可以作为重要的化学信号在生理过程中发挥调控作用^[4]。例如,脂肪酸和 TAG 代谢的变化可能影响激素平衡,进而影响花的形成、花粉和胚珠的发育以及种子的成熟^[5]。近年来的研究深入揭示了 TAG 代谢与植物生殖发育的密切联系,尤其是花粉发育、种子形成及育性调控方面。在模式植物拟南芥中,TAG 的合成主要由 *DGAT1* 和 *PDAT1* 两条途径催化,这两种酶的功能存在重叠和互补,其协同作用对配子体的正常发育至关重要。研究发现,*DGAT1* 和 *PDAT1* 基因功能同时缺失会导致花粉发育异常,进而引起配子体功能丧失^[6]。在逆境胁迫条件下,拟南芥幼苗中 ABA 信号通路通常与花粉发育和种子休眠相关,*DGAT1* 作为 ABA 下游靶标,可能通过影响脂质信号分子或能量供应间接参与育性调控^[7]。

TAG 的生物合成主要通过 Kennedy 途径实现,其中二酰甘油酰基转移酶(*DGAT*)是催化最后一步酰化反应的关键限速酶^[8-9],对 TAG 的合成与积累有重要意义。*DGAT* 存在多种类型,包括 *DGAT1*、*DGAT2* 和 *DGAT3*,它们在植物不同组织和发育阶段产生不同影响^[10]。近期研究发现,*DGAT* 在植物育性方面起着关键作用,主要通过调控脂质代谢来影响生殖器官的发育和功能。在拟南芥中,脂质代谢缺陷会导致其花粉管生长减缓和雄性传递率下降^[11]。在油料作物如紫苏中的 *PDGAT1A*、*PDGAT2A*、*PDGAT3B* 等基因被鉴定为控制紫苏种子油脂合成和多聚不饱和脂肪酸富集的关键成员,通过代谢工程对这些基因进行调控,为改良作物(包括影响种子发育和花粉育性)的脂质代谢提供了优异的靶标^[12-13]。

小麦(*Triticum aestivum* L.)是全球最重要的粮食作物之一,其产量与品质直接关系到粮食安全。小麦提供了全世界约 35% 人口的主要食物,其籽粒中积累的淀粉和蛋白质是产量与品质形成的基础^[14-15]。这些储藏物质的合成与积累效率,不仅影响籽粒重量和产量,也决定了面粉的加工品质^[16-17]。研究表明,脂类代谢与小麦的生殖发育存在关联^[18-21]。为了深入理解这一机制,本研究基于课题组前期通过转录组测序筛选出的花粉发育相关的差异表达基因,利用 PCR 从光温敏雄性不育系小麦中扩增获得该基因的 CDS 编码序列。利用生物信息学网站对该基因及其蛋白质特征进行分析,并采用实时荧光定量 PCR 方法分析了该基因在可育环境和不育环境中各组织和不同时期花药中的表达模式,以期为深入探究 *TaDGAT* 基因在小麦花药发育过程的功能提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

研究材料小麦光温敏核雄性不育系 BS366 由北京市农林科学院杂交小麦研究所提供。该材料在低温短日条件下表现为雄性不育,高温长日条件下可育。试验材料 BS366 于 2023 年 10—11 月分别种植于北京市农林科学院试验基地(39.944°N, 116.287°E,可育环境)和邓州市国家杂交小麦产业化基地(32.686°N, 112.090°E,不育环境)。2024 年 4—5 月,在北京和邓州两地收集 BS366 不同发育时期(小孢子母细胞时期、二分体时期、四分体时期)的花药,各样品以种植地首字母缩写(BJ:北京;DZ:邓州)结合花药关键发育时期(3.5:小孢子母细胞时期;4.5:二分体时期;5.5:四分体时期)进行标注。组织特异性分析样品(根、茎、叶、雌蕊、雄蕊及颖壳)于花药开裂时期取自北京种植基地。所有样品取样后迅速放入液氮中保

存、运输,后置于-80℃冰箱保存,每个组织样本设置3个重复。

1.2 候选*TaDGAT* 的确定

前期课题组通过分析可育和不育环境下,不同花药发育时期转录组中的差异表达基因(differentially expressed gene, DEG),筛选得到一个与花粉发育相关且差异表达的候选基因*TaDGAT* (TraesCS1A02G125300)。通过 Ensembl plants 网站查询并得到*TaDGAT* 序列,为后续在 BS366 中克隆该基因提供序列参考。

1.3 RNA 提取及 cDNA 合成

将液氮冷冻样品(根、茎、叶、雌蕊、雄蕊、颖壳及花药)研磨成粉,使用 Trizol 试剂提取样品 RNA,使用超微量核酸蛋白检测仪(NanoDrop, Thermo,美国)对提取 RNA 进行浓度及质量分析,1%琼脂糖凝胶电泳验证 RNA,将合格的 RNA 样品置于-80℃冰箱保存。参照逆转录试剂盒 HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (+gDNawiper)(Vazyme)说明书,以各组织 RNA 为模板逆转录合成 cDNA。

1.4 *TaDGAT* 克隆

通过 NCBI 网站进行 BLAST 对比,分析不同染色体*TaDGAT* 同源基因的相似度及候选基因的保守区。使用 Primer Premier 5.0 软件,针对候选*TaDGAT* 基因的编码区序列,设计并合成特异性扩增引物 TaDGAT-CF/CR(表1)。以 BS366 花药组织 cDNA 为模板,进行 PCR 扩增。扩增总体积 20 μL,其中 2 × Phanta Max Master Mix(Dye Plus) 10 μL、上下游引物(10 μmol · L⁻¹)各 1 μL、模板 cDNA 0.5 μL(100 ng · μL⁻¹)和 ddH₂O 7.5 μL,置于冰上操作。扩增程序:95℃预变性 45 s;95℃变性 10 s,60℃退火/延伸 30 s,30 次循环;72℃延伸 5 min;4℃保存。用 1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果,胶回收后连接于 TA 载体,菌落 PCR 筛选,再进行转化,筛选阳性克隆测序(华大基因)。

1.5 生物信息学分析

1.5.1 蛋白质结构及功能预测

将测序获得的 BS366 小麦*TaDGAT* 序列,通过 DNAMAN(ver. 9.0)软件翻译成 TaDGAT 的氨基酸序列,使用 ExPaSy(<https://web.expasy.org>)、Prabi(<https://npsa-pbil.ibcp.fr>)、SWISS-MODEL(<https://www.expasy.org>)在线软件,分别进行一、二、三级蛋白结构的预测。使用 NCBI conserved domains、SignalP 6.0 Server、ProtScale、NetPhos 分别预测蛋白保守结构域、信号肽、疏水性、磷酸化位点。对*TaDGAT* 编码序列上游 2 kb 的 DNA 序列使用 PlantCARE,分析顺式作用元件。

1.5.2 系统进化分析及蛋白互作

通过 NCBI 网站 BLAST 比对得到相似度最高的 7 种植物序列,用 DNAMAN(V9.0)将小麦 TaDGAT 氨基酸序列与其他植物 DGAT 的氨基酸序列进行比对。利用 MEGA6.0 构建小麦与其他植物 DGAT 的系统进化树。利用 MEME 预测 *TaDGAT* 的 motif(基序)。使用 PsRNATarget 与 STRING 分别预测 miRNA 互作和蛋白互作。

1.6 *TaDGAT* 表达分析

以 TaDGAT-QF/TaDGAT-QR(表1)为引物,小麦β-Actin(GenBank: AB181991)为内参基因进行 qRT-PCR 分析。参照 Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix(Vazyme)试剂盒说明书配制定量反应体系(20 μL):cDNA 稀释 10 倍后的工作液 1 μL、正反向引物(10 μmol · L⁻¹)各 0.4 μL、ddH₂O 8.2 μL 及 Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix 10 μL。反应程序:95℃预变性 30 s;95℃变性 3~10 s,60℃退火/延伸 10~30 s;40 个循环(各步骤具体反应时间根据试剂盒说明书微调)。每个样品 3 个生物学重复,以无菌水模板为阴性对照,采用 2^{-ΔΔCT} 计算基因相对表达量。

表 1 引物序列及用途
Table 1 Primer sequences and their usage

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence(5'-3')	用途 Usage
TaDGAT-CF	TTAGTCTACCAGCCTTCCC	蛋白编码区克隆 CDS cloning
TaDGAT-CR	TTCACGACGATTGGATTT	
TaDGAT-QF	TCTGCGGTTGTGTCTGGTTT	荧光定量 PCR qRT-PCR
TaDGAT-QR	CCATGTCATCTGTGCTGGGT	
β-Actin-QF	TACTCCCTCACAACAACCG	内参基因 Reference gene
β-Actin-QR	AGAACCTCCACTGAGAACAA	

2 结果与分析

2.1 *TaDGAT* 的克隆

以 BS366 花药 cDNA 为模板,经 PCR 扩增获得一条长 1 500 bp 左右的片段(图 1)。扩增产物经连接、转化和 ORF Finder 在线分析, *TaDGAT* 全长 CDS 为 1 542 bp,编码 513 个氨基酸(图 2)。

2.2 生物学分析

2.2.1 蛋白质结构及功能预测

TaDGAT 一级蛋白结构的预测结果显示,该

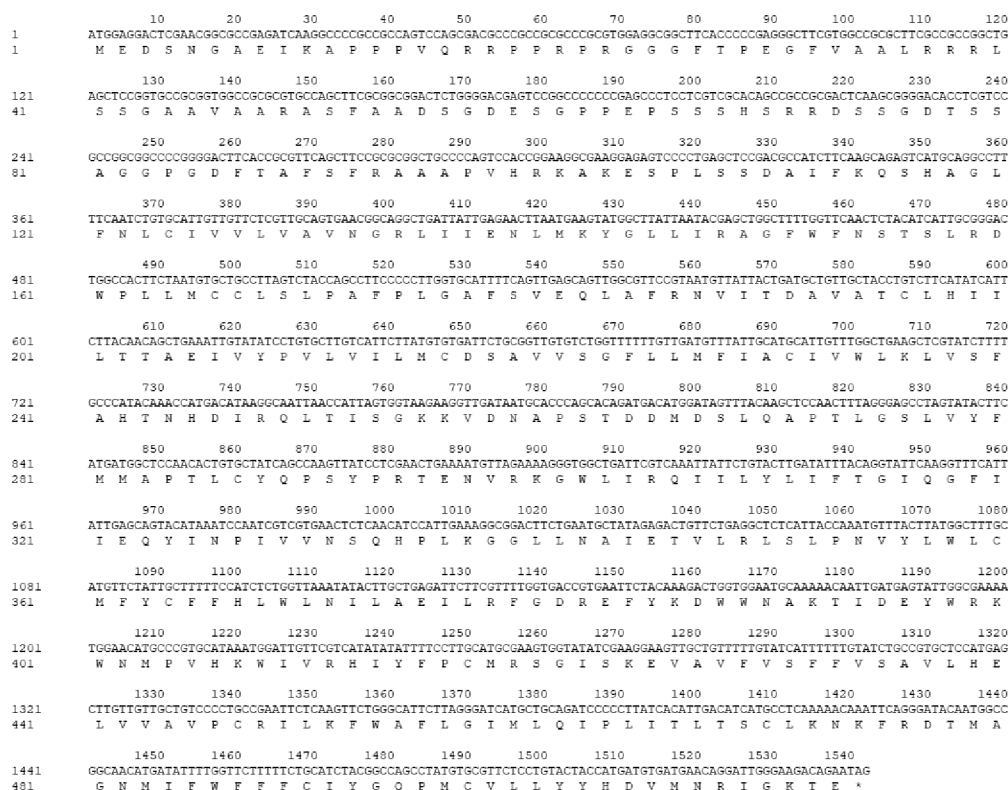


图2 *TaDGAT* 基因的核苷酸序列及其编码的氨基酸序列

Fig. 2 Nucleotide sequence of the *TaDGAT* gene and its encoded amino acid sequence

蛋白分子式为 $C_{2657}H_{4093}N_{687}O_{695}S_{30}$, 其相对分子质量为 57.742 kD, 蛋白质不稳定系数为 51.01, 脂族长系数为 99.61, 总平均亲水性指数为 0.295, 理论等电点为 8.92, 带正电残基数量为 48, 带负电残基数量为 38, 表明该蛋白为稳定性较低、疏水性强的碱性蛋白。二级结构预测显示, α 螺旋、延伸链、 β 转角和无规则卷曲的氨基酸残基数分别为 248、60、22 和 183 个, 占比分别为 48.34%、11.70%、4.29% 和 35.67%。TaDGAT 的三级结构预测显示, 该蛋白质有 33 种不同的二酰基甘油。O-酰基转移酶 1 的三级结构与 TaDGAT 的三级结

构的相似度在 40%~86%, 推测该蛋白属于膜结合的 O-酰基转移酶家族蛋白 (MBOAT super family)。

预测分析发现, *TaDGAT* 基因编码的蛋白定位在细胞膜和高尔基体上。通过相应在线网站分别进行保守结构域、信号肽、疏水性和磷酸化位点预测, 该蛋白有跨膜结构域(图 3), 无信号肽; 存在 5 个疏水高峰; 含有 39 个磷酸化位点。

为了进一步了解*TaDGA T*潜在的功能,对其启动子区上游序列进行了顺式作用元件分析,发现启动子区含有多个顺式作用元件,包括分生组

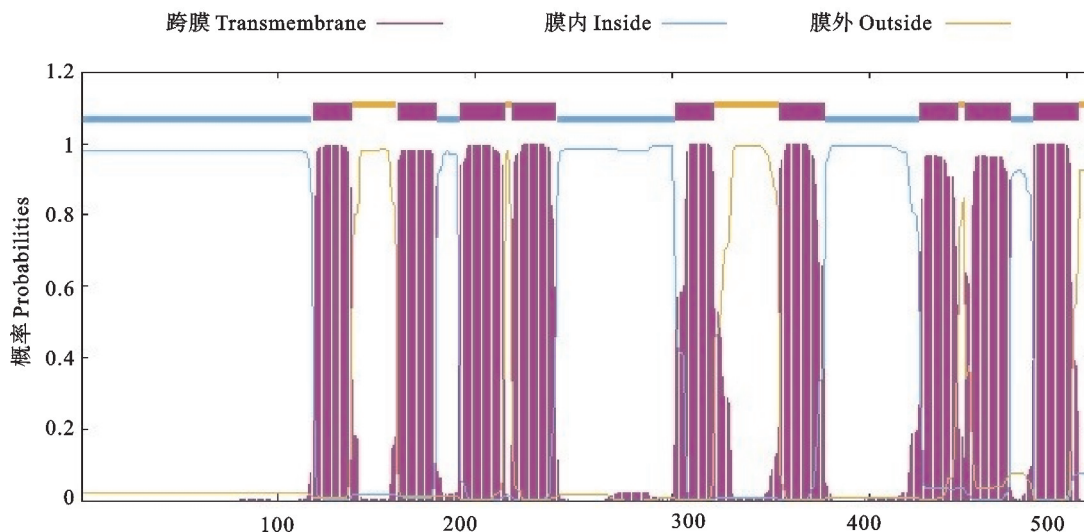


图 3 TaDGAT 的跨膜结构域预测

Fig. 3 Prediction of conserved domain of TaDGAT

织表达相关元件(CAT-box)、光反应的保守 DNA 元件(Box4)、光响应元件(TCCC-motif、CAG-motif、TCT-motif)、缺氧特异性诱导的增强子元件(GC-motif)、与抗逆性相关的脱落酸作用元件(ABRE),表明该基因可能响应周期,参与分生组织发育过程,同时参与非生物逆境响应。

2.2.2 系统进化分析及蛋白互作

对比小麦与其他植物的 DGAT 氨基酸序列,发现小麦(*Triticum aestivum* L.)与大麦(*Hordeum vulgare* L.)、高粱(*Sorghum bicolor* L.)、胡桃(*Juglans regia*)、芦笋(*Asparagus officinalis*)、水稻(*Oryza sativa*)、野生稻(*Oryza brachyantha*)、玉米(*Zea mays* L.)的 DGAT 氨基酸序列相似度分别为 96.49%、85.71%、62.70%、67.62%、81.98%、82.81%和 83.56%(图 4)。不同物种 DGAT 成员之间具有较高的相似性,同源的重复序列包含酰基辅酶 A 结合区、催化活性位点 SR-LIEN、SnPK1 靶向位点、脂肪酸结合位点信号区、DAG 结合区与识别内质网的信号区。

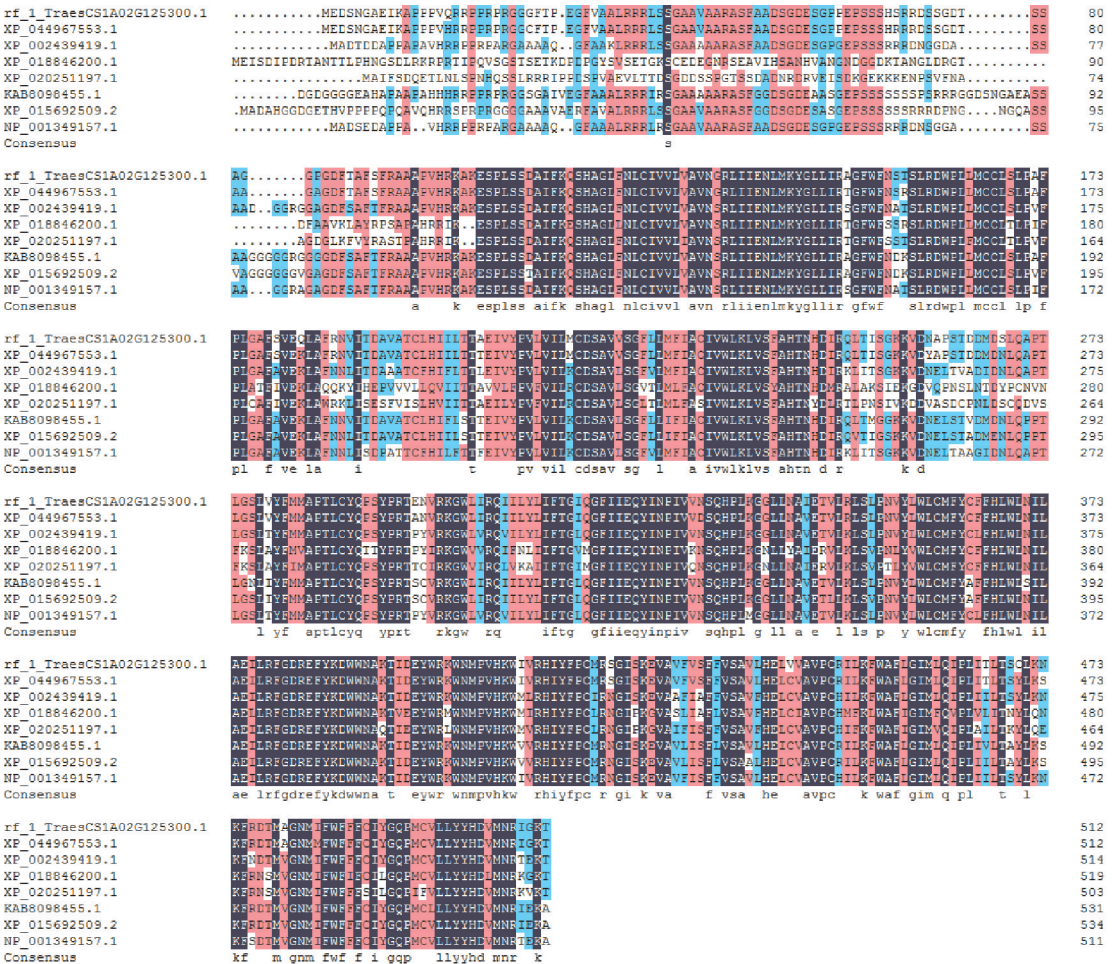
利用 MEGA 6.0 软件,以小麦及大麦、高粱、胡桃等 7 种植物的 DGAT 氨基酸序列构建系统进化树(图 5)。结果显示,小麦 TaDGAT 与大麦 DGAT 同属于一个进化分支,表明二者在物种演化进程中的亲缘关系相对更近。进一步的 motif 保守结构域分析表明,小麦 TaDGAT 与上述其他植物的 DGAT 蛋白具有相同的 motif 组成特征,均包含 10 个 motif,且各 motif 的序列高度保守。

近年来,越来越多的研究表明,miRNA 可通过转录后水平调控靶基因,参与调节植物的生长、发育、代谢、激素传导与胁迫响应过程。除此之外,miRNA 还通过调控植物开花的时间影响植株发育。为进一步了解 TaDGAT 在花药发育中的潜在功能,预测与 TaDGAT 互作的 miRNA,结果发现在不同物种中有 96 种 miRNA 与 TaDGAT 互作(图 6)。推测 TaDGAT 可能通过与这些 miRNA 互作而发挥功能。

对小麦 TaDGAT 的蛋白互作关系进行预测,有 10 条与 TaDGAT 互作的蛋白序列,说明 TaDGAT 可能与二酰甘油酰基转移酶 2(Diacylglycerol O-acyltransferase 2; DGAT2)(TraesCS7D02G228700、TraesCS6B02G306700、TraesCS4A02G456400、TraesCS7A02G225800、TraesCS6D02G259000、TraesCS6A02G278400)、O-酰基转移酶(O-acyltransferase; OATs)(TraesCS1A02G125300)、磷酸甘油酸磷酸酶(Phosphatidate phosphatase; PAP)(TraesCS1D02G286300)、磷脂酶 D(Phospholipase D; PLD)(TraesCS6A02G071700)等蛋白互作,且这些蛋白都属于脂质代谢途径中的关键蛋白(图 7)。

2.3 基因表达模式分析

为了解 TaDGAT 在小麦不同组织中的表达模式,对根、茎、叶、雌蕊、颖壳以及雄蕊中 TaDGAT 基因的表达模式进行分析。结果发现, TaDGAT 在各组织中均有表达。颖壳中表达量显著高于其他组织,花药中表达量则显著低于其他组织,根、茎、叶、雌蕊之间没有显著性差异(图 8)。



rf_1_TraeasCS1A02G125300.1: 小麦 (TaDGAT); XP_044967553.1: 大麦; XP_002439419.1: 高粱; XP_018846200.1: 胡桃; XP_020251197.1: 芦笋; KAB8098455.1: 水稻; XP_015692509.2: 野生稻; NP_001349157.1: 玉米。下同。

rf_1_TraeasCS1A02G125300.1: *Triticum aestivum* L. (TaDGAT); XP_044967553.1: *Hordeum vulgare* L.; XP_002439419.1: *Sorghum bicolor*; XP_018846200.1: *Juglans regia*; XP_020251197.1: *Asparagus officinalis*; KAB8098455.1: *Oryza sativa*; XP_015692509.2: *Oryza brachyantha*; NP_001349157.1: *Zea mays* L. The same in Fig. 5.

图 4 TaDGAT 与其他物种同源氨基酸序列比对

Fig. 4 Amino acid sequence alignment of TaDGAT with homologous proteins in other species

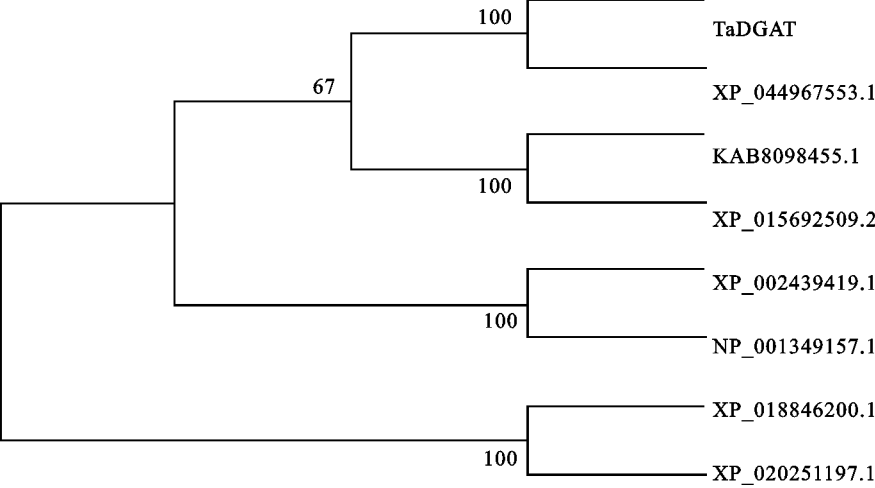


图 5 小麦 TaDGAT 与其他物种 DGAT 的系统进化树分析

Fig. 5 Phylogenetic tree analysis of TaDGAT and DGAT in other species

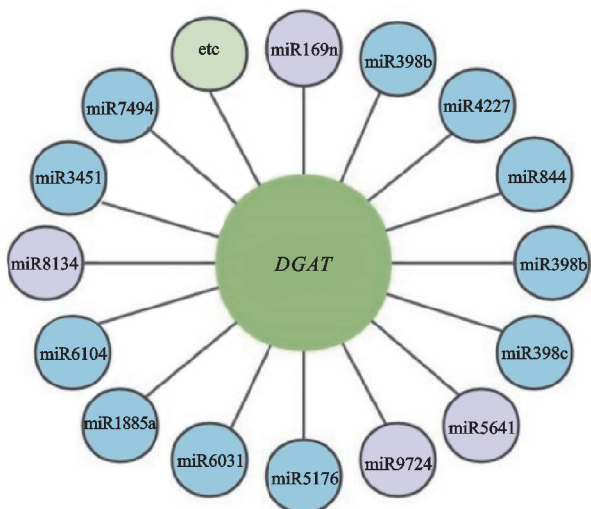


图 6 *TaDGAT* 与 miRNA 的互作分析
Fig. 6 Interaction of *TaDGAT* and miRNA

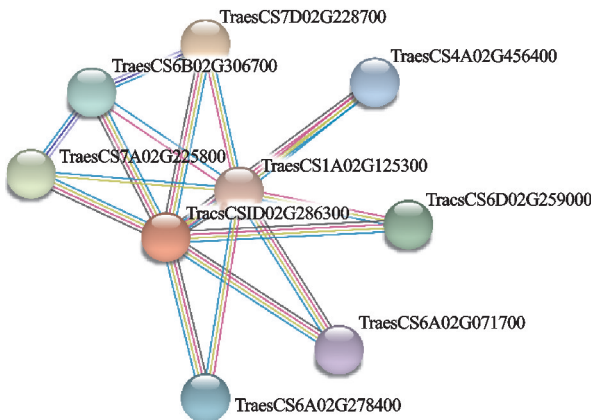
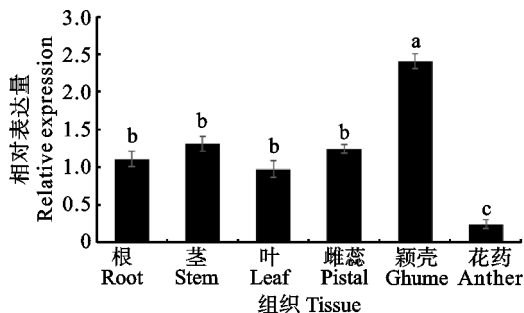


图 7 *TaDGAT* 蛋白质互作网络图
Fig. 7 Network diagram of *TaDGAT* protein interaction



不同字母代表组织间表达量差异显著,下同。

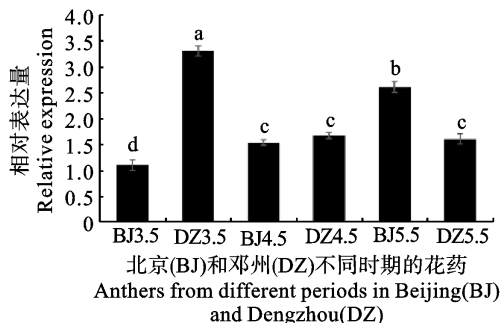
Different letters mean significant difference in different tissues at 0.05 level. The same in Fig. 9.

图 8 *TaDGAT* 在小麦不同组织中的表达模式

Fig. 8 Expression patterns of *TaDGAT* in different tissues of wheat

为探究 *TaDGAT* 在花药发育及花粉育性中调控关系,分析 *TaDGAT* 在不同育性环境下、不

同花药发育时期(贯穿整个育性转换时期),该基因在小麦花药中的表达模式。由图 9 可知,不育环境(邓州)和可育环境(北京)的不同花药发育时期中 *TaDGAT* 的表达量不同。除四分体时期(5.5 时期),不育环境小麦花药中 *TaDGAT* 的表达量均高于其在可育环境中对应时期的表达量。其中,不育环境中的 *TaDGAT* 基因在小孢子母细胞时期(DZ3.5 时期)表达量显著高于其他时期,而其在可育环境中该时期表达量最低(BJ3.5)。



3.5: 小孢子母细胞时期;4.5: 二分体时期;5.5: 四分体时期。
3.5: Microspore mother cell stage;4.5: Dyad stage;5.5: Tetrad stage.

图 9 在北京和邓州不同时期花药中 *TaDGAT* 的表达
Fig. 9 Expression patterns of *TaDGAT* in anthers at different stages in Beijing and Dengzhou

3 讨论

DGAT 作为植物三酰甘油(TAG)合成途径的关键限速酶,负责催化 TAG 合成的最后一步反应。脂质是细胞膜的主要组成成分,正常的脂代谢对维持绒毡层细胞及花粉自身细胞膜稳定性至关重要,而 TAG 作为脂质的重要储存形式,其合成效率直接影响花药发育进程^[22]。已有研究证实,脂代谢异常是导致植物雄性不育的重要诱因之一。在高温、长日照等不育条件下,脂代谢相关基因的表达或酶活性易受干扰,进而导致脂质合成紊乱;水稻花药特异性脂代谢基因 *OsDGD2β* 突变后,会显著降低花药脂质含量并引发雄性不育^[23]。另外,环境信号(尤其是光、温信号)还可通过调控花药发育节奏间接影响育性——拟南芥温敏不育系研究表明,低温可延缓小孢子发育进程,为脂质等关键物质的积累提供充足时间,最终实现育性恢复^[24]。这一机制暗示,花药发育速度与脂代谢基因功能之间存在协同调控关系,即使脂代谢基因功能存在轻微缺陷,适宜的发育节奏

也可提供功能缓冲。结合*TaDGAT*上游含有的光响应及逆境响应元件,推测其功能可能与小麦光温敏雄性不育性状密切相关。

为进一步研究*TaDGAT*的功能,本研究构建了小麦与大麦、高粱、胡桃、芦笋、野生稻、水稻、玉米共8个物种的*DGAT*基因系统发育树,结果显示,这些物种的*DGAT*基因亲缘关系密切,均隶属于*DGAT1*家族。物种间*DGAT*氨基酸序列的高一致性,表明该基因在进化过程中高度保守,暗示其核心功能在不同植物中具有传承性。前人研究已证实,玉米*DGAT1-2*在胚乳等组织中高表达,其酶活性提升可显著增加籽粒含油量^[25];结合*DGAT*在花药发育中的脂代谢功能,推测该家族基因在花药中表达时,可能通过提供充足的中性脂质(油脂)储备,为花粉壁形成及花粉发育提供能量供应或结构支撑。基于上述进化保守性特征,推测小麦*TaDGAT*可能通过调控TAG合成参与脂代谢过程,并进一步影响小麦花药发育及光温敏育性调控。通过miRNA互作预测发现,miR398b、miR398c、miR169n及miR1885a等可与*TaDGAT*互作。前人研究发现,这些miRNA均与植物花药发育、开花调控等生殖相关过程密切相关;miR398已被证实直接参与棉花雄性不育系的花药发育^[26];miR169家族是胁迫诱导植物早花的关键调控因子,通过抑制*AtNF-YA*转录因子降低*FLC*基因表达促进开花,且该调控过程独立于已知开花途径,构成胁迫诱导早花的新途径^[27];miR1885的积累随植物发育期动态变化,幼苗期低水平、花期达峰值、花后快速下降,通过miR1885/*BraTNL1*模块维持幼苗期基础免疫活性,同时通过miR1885/*BraTIR1 (phasiR130-4)/BraCP24*模块抑制过早开花、促进营养生长,过表达miR1885可使油菜花期提前、果荚变小,下调则导致晚花、果荚变大^[21]。结合上述miRNA的已知功能,推测这些miRNA与*TaDGAT*的互作,可能通过调控脂质代谢间接影响小麦花药发育及雄性不育过程。

蛋白质互作预测发现*TaDGAT*的互作蛋白包括二酰甘油酰基转移酶2、O-酰基转移酶、磷酸甘油酸磷酸酶、磷脂酶D等,均核心参与脂质代谢过程。而大量物种研究已证实,脂质代谢失衡与雄性不育密切相关;小麦中,雄性不育与膜脂过氧化及抗氧化酶代谢机制相关,活性氧(ROS)产生与清除失衡可能通过干扰脂质代谢诱发雄性不

育^[28];棉花中, α -亚麻酸代谢途径紊乱等脂质代谢失衡现象会直接导致雄性不育^[29];玉米中,*ZmMs33*突变体因脂质代谢与细胞壁重塑失调,导致花药伸长受阻,最终影响花粉发育^[30]。同时,结合亚细胞定位预测结果,推测*TaDGAT*可能参与生物膜系统合成,其功能缺失或对花药发育产生影响。若该基因功能异常,可能导致绒毡层细胞膜结构紊乱,影响其分泌功能,进而阻碍花粉发育^[31]。

综上,本研究推测*TaDGAT*可能通过调节脂质代谢参与小麦光温敏雄性不育过程。未来需进一步开展功能验证实验,明确*TaDGAT*在花药发育中的具体作用机制,探索其响应环境信号的途径及与miRNA互作的调控网络,为小麦雄性不育的生理机制研究与育种应用提供新方向。

4 结论

为探究*TaDGAT*基因在小麦光温敏雄性不育系花药发育中的潜在功能,本研究在小麦光温敏核雄性不育系BS366克隆了*TaDGAT*,该基因开放阅读框(ORF)长度为1 542 bp,编码513个氨基酸,属于O-酰基转移酶家族。miR398、miR169等miRNAs可能通过与*TaDGAT*互作参与脂质代谢过程,进而影响花药发育;另外*TaDGAT*主要与脂代谢途径中的O-酰基转移酶等关键蛋白发生互作。经表达模式分析,*TaDGAT*在可育条件下花药中表达水平较低,而在不育条件下则显著上调,表明其表达与花粉育性密切相关。

参考文献:

- [1]何双呈. 转录因子STK和WIP2调控十字花科植物种子油脂积累与叶片发育的机制解析[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2025.
- [2]HE S C. Mechanism analysis of transcription factors STK and WIP2 regulating seed oil accumulation and leaf development of cruciferae plants [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2025.
- [3]GRAHAM I A. Seed storage oil mobilization [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59: 115.
- [4]BAUD S, LEPINIEC L. Regulation of *de novo* fatty acid synthesis in maturing oilseeds of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, 47(6): 448.
- [5]ZHANG Y Y, ZHU H Y, ZHANG Q, et al. Phospholipase Da1 and phosphatidic acid regulate NADPH oxidase activity and production of reactive oxygen species in ABA-mediated stomatal closure in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(8): 2357.
- [6]李国明, 刘凌, 龚树立, 等. 功能性植物油脂的主要生理活性及应用[J]. 中国食品添加剂, 2013(2): 175.

- LI G M, LIU L, GONG S L, *et al.* The physiological activities and the applications of functional plant oils [J]. *China Food Additives*, 2013(2):175.
- [6] MCGUIRE S T, SHOCKEY J, BATES P D. The first intron and promoter of *Arabidopsis* DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE 1 exert synergistic effects on pollen and embryo lipid accumulation [J]. *New Phytologist*, 2025, 245(1):263.
- [7] KONG Y F, CHEN S B, YANG Y, *et al.* ABA-insensitive (ABI) 4 and ABI5 synergistically regulate *DGAT1* expression in *Arabidopsis* seedlings under stress [J]. *FEBS Letters*, 2013, 587(18):3076.
- [8] SUN Y, JING H Q, LI Z Q, *et al.* Integrated transcriptomic, metabolomic and lipidomic analyses uncover the crucial roles of lipid metabolism pathways in oat (*Avena sativa*) responses to heat stress [J]. *BMC Genomics*, 2025, 26(1):780.
- [9] KATAVIC V, REED D W, TAYLOR D C, *et al.* Alteration of seed fatty acid composition by an ethyl methane sulfonate-induced mutation in *Arabidopsis thaliana* affecting diacylglycerol acyltransferase activity [J]. *Plant Physiology*, 1995, 108(1):399.
- [10] LEE K R, KIM Y M, YEO Y, *et al.* Camelina cytosol-localized diacylglycerol acyltransferase 3 contributes to the accumulation of seed storage oils [J]. *Industrial Crops and Products*, 2022, 189:115808.
- [11] SONG J P, MAVRAGANIS I, SHEN W Y, *et al.* Pistil-derived lipids influence pollen tube growth and male fertility in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiology*, 2024, 196(2):763.
- [12] ZHOU Y L, HUANG X S, SUN Y, *et al.* Three distinctive diacylglycerol acyltransferases (DGAT1, DGAT2, and DGAT3) from *Perilla frutescens* and their potential in metabolic engineering for designed oil production [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2025, 73(32):20254.
- [13] SONG J M, ZHANG Y T, ZHOU Z W, *et al.* Oil plant genomes: Current state of the science [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(9):2859.
- [14] 张佳琳. 小麦籽粒发育过程中转录调控网络的构建[D]. 北京: 中国农业科学院, 2023.
- ZHANG J L. Construction of transcriptional regulatory networks during wheat grain development [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2023.
- [15] ZHAO L, CHEN J C, ZHANG Z H, *et al.* Deciphering the transcriptional regulatory network governing starch and storage protein biosynthesis in wheat for breeding improvement [J]. *Advanced Science*, 2024, 11(33):2401383.
- [16] 高欣, 郭雷, 单宝雪, 等. 淀粉颗粒类型及其比例在小麦品质特性形成与改良中的作用[J]. 作物学报, 2023, 49(6):1447.
- GAO X, GUO L, SHAN B X, *et al.* Types and ratios of starch granules in grains and their roles in the formation and improvement of wheat quality properties [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2023, 49(6):1447.
- [17] 姜东, 仲迎鑫, 蔡剑, 等. 小麦籽粒品质空间分布异质性及其形成机制研究进展[J]. 南京农业大学学报, 2021, 44(6):1013.
- JIANG D, ZHONG Y X, CAI J, *et al.* Advances of spatial distribution heterogeneity of wheat grain quality and the underlying mechanisms [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2021, 44(6):1013.
- [18] MEI F M, CHEN B, DU L Y, *et al.* A gain-of-function allele of a DREB transcription factor gene ameliorates drought tolerance in wheat [J]. *The Plant Cell*, 2022, 34(11):4472.
- [19] TANG Z H, ZHANG L P, XU C G, *et al.* Uncovering small RNA-mediated responses to cold stress in a wheat thermosensitive genic male-sterile line by deep sequencing [J]. *Plant Physiology*, 2012, 159(2):721.
- [20] CAI H Y, LIU L P, ZHANG M, *et al.* Spatiotemporal control of miR398 biogenesis, via chromatin remodeling and kinase signaling, ensures proper ovule development [J]. *The Plant Cell*, 2021, 33(5):1530.
- [21] CUI C, WANG J J, ZHAO J H, *et al.* A Brassica miRNA regulates plant growth and immunity through distinct modes of action [J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(2):231.
- [22] 吴锁伟, 邹欣欣, 刘小娟, 等. 植物细胞核雄性不育基因及其分子调控机理[J/OL]. 科学通报, 2025; 1. (2025-04-25). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=KXTB20250423004&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- WU S W, ZOU X X, LIU X J, *et al.* Plant genic male sterility genes and their molecular regulatory mechanisms [J/OL]. *Chinese Science Bulletin*, 2025; 1. (2025-04-25). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=KXTB20250423004&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [23] BASNET R, HUSSAIN N, SHU Q Y. *OsDGD2β* is the sole digalactosyldiacylglycerol synthase gene highly expressed in anther, and its mutation confers male sterility in rice [J]. *Rice*, 2019, 12(1):66.
- [24] ZHU J, LOU Y, SHI Q S, *et al.* Slowing development restores the fertility of thermo-sensitive male-sterile plant lines [J]. *Nature Plants*, 2020, 6(4):360.
- [25] 蓝碧秀, 吴子恺, 王凇, 等. *DGAT1-2* 基因在超高油玉米中的转化、表达及对油脂含量的影响[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(5):43.
- LAN B X, WU Z K, WANG L, *et al.* Transformation and expression of *DGAT1-2* gene and its effect on the oil content of super-high oil corn [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2015, 36(5):43.
- [26] WEI M M, WEI H L, WU M, *et al.* Comparative expression profiling of miRNA during anther development in genetic male sterile and wild type cotton [J]. *BMC Plant Biology*, 2013, 13:66.
- [27] XU M Y, ZHANG L, LI W W, *et al.* Stress-induced early flowering is mediated by miR169 in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(1):89.
- [28] LIU H Z, ZHANG G S, WANG J S, *et al.* The relationship between male sterility and membrane lipid peroxidation and antioxidant enzymes in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Turkish Journal of Field Crops*, 2015, 20(2):179.
- [29] MA L H, WANG P T, ZHU Q H, *et al.* Unbalanced lipid metabolism in anther, especially the disorder of the alpha-linolenic acid metabolism pathway, leads to cotton male sterility [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2024.
- [30] LI Z W, ZHU T T, LIU S S, *et al.* *ZmMs33* promotes anther elongation via modulating cell elongation regulators, metabolic homeostasis, and cell wall remodeling in maize [J]. *The Crop Journal*, 2023, 11(2):361.
- [31] WAN X Y, WU S W, LI Z W, *et al.* Lipid metabolism: Critical roles in male fertility and other aspects of reproductive development in plants [J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(7):955.