



宋维富,杨雪峰,刘东军,等.龙麦系列部分品种(系)Wx-B1b 基因检测与淀粉特性分析[J].黑龙江农业科学,2024(7):1-5.

龙麦系列部分品种(系)Wx-B1b 基因检测与淀粉特性分析

宋维富,杨雪峰,刘东军,赵丽娟,仇琳,宋庆杰,张春利,辛文利

(黑龙江省农业科学院 作物资源研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:小麦品质改良是东北春麦区强筋小麦育种的主要目标之一,小麦籽粒淀粉特性是决定面条品质的重要因素。淀粉特性与直链淀粉含量密切相关,Wx-B1b 基因为控制小麦直链淀粉含量的主效基因。为明确该基因在龙麦系列品种(系)中的分布情况,从而为面包面条兼用型强筋小麦育种和品质改良提供有用信息,利用 Wx-B1b 基因特异性分子标记检测了 153 份小麦品种(系),并对该基因在东北春麦区强筋小麦遗传背景下淀粉特性的影响进行分析。结果表明,该特异性标记能准确鉴定 Wx-B1b 基因,在检测的 153 份材料中,82 份材料含有 Wx-B1b 基因,占比为 53.6%;黏度仪的峰值黏度在 Wx-B1b 和 Wx-B1a 基因型间差异达到显著水平($P<0.05$),为淀粉特性改良的主效基因。因此在东北春麦区为进一步提高面包面条兼用型强筋小麦新品种选育效率,在亲本组配、后代选择及稳定品系处理中应加强 Wx-B1b 基因的应用和选择。

关键词:小麦;育种;龙麦系列;稳定品系;Wx-B1b 基因

中国是全球最大的小麦生产国和消费国,2022 年我国小麦面粉产量为 8 891.67 万 t,其中,传统面制品占面粉消费量的 80%左右(面条类占 35%、馒头类占 30%、水饺类占 9%、饼类占 6%);烘焙类面制品占比 15%左右(面包类占比 7%、饼干蛋糕类 8%);工业用粉(淀粉、谷朊粉用粉)占 5%左右^[1]。面条现为我国传统面制品消费量最大的品类,加强小麦的面条品质育种符合我国面制品消费国情,对于促进面制品加工业高质量发展具有重要意义。

东北春麦区为我国强筋小麦优势产业带之一^[2],寒地黑土,一年一季,同我国各大麦区相比该区小麦生产的病、虫害发生少,化肥和农药投入量低,无重金属污染等不利因素^[3-5],具有发展绿色强筋“硬红春”面包麦生产的各种比较优势,为我国优质强筋和超强筋小麦的重要生产基地^[2,6]。在强筋面包麦小麦育种基础上,进一步加强小麦品种面条品质改良,有利于拓宽该区小麦原粮二次加工品质适用范围,实现小麦生产提质增效,对于推动该区小麦产业发展意义重大。

小麦籽粒淀粉特性是决定面条品质的重要因素^[7-8]。淀粉分为直链淀粉和支链淀粉两种类型,

占比分别为 22%~35%和 65%~78%^[9-10]。其中,淀粉特性与直链/支链淀粉比值密切相关^[11-12]。降低直链/支链淀粉比值有利于改善面条软度、黏性、光滑性、口感和综合评分^[13-14]。直链淀粉含量低是澳大利亚、日本等国衡量面条小麦品质的重要指标^[15-16]。

直链淀粉主要由颗粒结合型淀粉合酶(Granule-bound starch synthase,GBSS)合成,GBSS 又称为 Waxy 蛋白(Wx protein)^[17]。普通小麦含有 3 种 Wx 蛋白亚基,Wx-A1、Wx-B1 和 Wx-D1,分别由位于 7AS、4AL 和 7DS 的 Wx-A1、Wx-B1、Wx-D1 基因编码^[18]。其中任何一个 Wx 基因的缺失都会影响直链淀粉合成,使直链淀粉含量降低、支链淀粉含量增加,导致直链/支链淀粉比值降低^[19-20]。大量研究表明,降低直链/支链淀粉比值能显著改善小麦加工品质^[13-14,21]。3 个位点对直链淀粉含量的影响效应表现为 Wx-B1 缺失型>Wx-D1 缺失型>Wx-A1 缺失型^[22]。在强筋小麦育种进程中,加强 Wx-B1 缺失型基因(即 Wx-B1b)选择,对于拓宽强筋小麦二次加工用途具有重要意义^[11-12]。

为明确 Wx-B1b 基因在东北春麦区龙麦系列品种及稳定品系的分布情况,本研究利用该基因

收稿日期:2023-11-06

基金项目:财政部和农业农村部现代农业产业技术体系春麦改良岗位科学家项目(CARS-03-12);黑龙江省自然科学基金(YQ2020C039);黑龙江省博士后科研启动基金(LBH-Q20176);黑龙江省省属科研院所科研业务费(CZKYF2021-2-B007)。

第一作者:宋维富(1982-),男,博士,副研究员,从事小麦品质遗传育种研究。E-mail:songweifu121@126.com。

通信作者:张春利(1970-),男,博士,研究员,从事小麦遗传育种研究。E-mail:zclwheat@126.com。

特异性分子标记对 153 份龙麦系列部分小麦品种及优异稳定品系(系)进行检测,并对其在淀粉特性改良的遗传效应进行分析,以期为面包面条兼用型强筋小麦育种提供有用信息。

1 材料与方法

1.1 材料

153 份供试材料为黑龙江省农业科学院作物资源研究所小麦研究室育成的部分品种,以及 2018—2020 年获得的优异稳定品系。阳性对照品种龙麦 26^[11],阴性对照品种龙麦 30。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取和目的基因检测 采用 CTAB 法提取小麦籽粒基因组 DNA。利用紫外分光光度计检测 DNA 浓度,稀释至终浓度 100 mg·L⁻¹。

1.2.2 引物序列的合成 根据 Saito 等^[23]方法合成 *Wx-B1b* 基因检测的特异性标记引物,序列为 5'-CGTAGTAAGGTGCAAAAAAGTGCCACG-3' 和 5'-ACAGCCTTATTGTACCAAGACCCATGTGTG-3',由上海生工有限公司合成。

1.2.3 PCR 反应的体系及程序 模板 DNA 50 ng, *Taq* 酶 1 U(宝生物工程(大连)有限公司),上、下游引物(10 μmol·L⁻¹)各 0.6 μL,dNTP(2.5 μmol·L⁻¹) 0.8 μL,10×buffer(Mg²⁺ plus)2.5 μL,用无菌蒸馏水补充反应体系至 20 μL。

PCR 反应程序:首先 94 ℃ 5 min;然后 94 ℃

变性 35 s,退火温度 60 ℃ 50 s,72 ℃ 延伸 1 min,共 35 个循环;最后 72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保温。扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳,用凝胶成像系统观察照相。

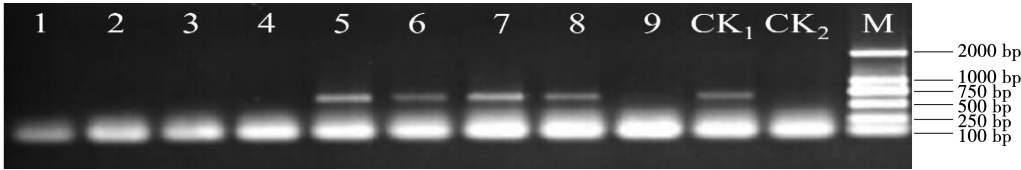
1.2.4 淀粉特性分析 利用德国 Brabender 生产的 Visco-E 型快速黏度分析仪(Rapid Viscosity Analyser,RVA),对 2019—2021 年对照品种龙麦 26 和龙麦 30,以及 2019—2022 年部分品系淀粉的糊化特性进行分析。测定方法参照 GB/T 24853—2010 标准^[24]。

1.2.5 数据分析 利用 SPSS 19.0 软件进行差异显著性分析。进行分析的对照品种龙麦 26 和龙麦 30 为 2019—2021 年 RVA 数据。部分品系间 RVA 数据(2019—2021 年)差异显著性分析以 *Wx-B1b* 基因检测结果进行分组。

2 结果与分析

2.1 龙麦系列品种(系)*Wx-B1b* 基因的分子标记检测

由图 1 可知,*Wx-B1b* 基因特异性标记在阴性对照品种龙麦 30 中无 PCR 扩增产物,在阳性对照品种龙麦 26 中扩增出 668 bp 片段,而且扩增条带清晰、重复性好。以上结果表明,*Wx-B1b* 基因特异性标记能够准确鉴定 *Wx-B1* 蛋白缺失型,可作为控制直链淀粉含量的 *Wx-B1b* 基因的分子标记辅助育种可靠标记。



1~9. 供试材料;CK₁. 龙麦 26;CK₂. 龙麦 30;M. 2 000 DNA Marker。

图 1 *Wx-B1b* 基因检测

2.2 龙麦系列品种(系)*Wx-B1b* 基因的分布

在检测的 153 个小麦品种(系)中(表 1),有 82 份材料携带 *Wx-B1b* 基因,占比为 53.6%。以

上结果表明,该基因在小麦育种过程中得到应用,但是所占比例相对较低,仍是开展面条面包强筋小麦育种的限制因子。

表 1 供试材料 *Wx-B1b* 基因分子标记检测结果

编号	品种(系)	<i>Wx-B1b</i>	编号	品种(系)	<i>Wx-B1b</i>	编号	品种(系)	<i>Wx-B1b</i>	编号	品种(系)	<i>Wx-B1b</i>
CK ₁	龙麦 26	+	38	19-9134	—	77	20-0121	+	116	20-0914	—
CK ₂	龙麦 30	—	39	19-9150	—	78	20-0122	+	117	20-0923	+
1	龙麦 31	—	40	19-9154	+	79	20-0152	+	118	20-0928	+
2	龙麦 39	—	41	19-9178	—	80	20-0171	+	119	20-0950	+
3	龙麦 40	—	42	19-9225	+	81	20-0172	+	120	20-0991	+
4	龙麦 60	—	43	19-9349	—	82	20-0185	+	121	20-1087	+
5	龙麦 91	—	44	19-9354	—	83	20-0187	+	122	20-1095	+

表 1 (续)

编号	品种(系)	<i>Wx-B1b</i>	编号	品种(系)	<i>Wx-B1b</i>	编号	品种(系)	<i>Wx-B1b</i>	编号	品种(系)	<i>Wx-B1b</i>
6	龙麦 96	+	45	19-9365	—	84	20-0210	+	123	20-1128	+
7	龙麦 97	—	46	19-9500	—	85	20-0213	+	124	20-1138	+
8	17-7205	—	47	19-9501	—	86	20-0217	+	125	20-1302	—
9	17-7207	+	48	19-9504	—	87	20-0382	+	126	14H4062	—
10	17-7209	+	49	19-9610	+	88	20-0385	+	127	18H2036	—
11	17-7740	+	50	19-9569	—	89	20-0400	+	128	18H2092	+
12	18-8005	—	51	19-9579	—	90	20-0432	—	129	18H2109	+
13	18-8058	—	52	19-9589	—	91	20-0514	—	130	18H2131	—
14	18-8060	—	53	19-9615	+	92	20-0535	—	131	18H2163	—
15	18-8113	—	54	19-9624	+	93	20-0537	—	132	18H2253	—
16	18-8159	—	55	19-9699	—	94	20-0569	+	133	19H1101	+
17	18-8234	—	56	19-9719	—	95	20-0570	+	134	19H1110	+
18	18-8355	—	57	19-9800	+	96	20-0588	+	135	19H1191	—
19	18-8638	—	58	19-9806	+	97	20-0600	—	136	19H1295	—
20	18-8650	—	59	19-9849	+	98	20-0628	—	137	19H2018	+
21	18-8654	—	60	19-9906	—	99	20-0632	—	138	19H2027	—
22	18-8660	—	61	19-9962	—	100	20-0687	—	139	19H2057	+
23	18-8669	—	62	19-10013	—	101	20-0688	+	140	19H2070	+
24	18-8675	—	63	19-10016	—	102	20-0752	+	141	19H2076	+
25	18-8679	—	64	19-10233	—	103	20-0818	+	142	19H2079	+
26	18-8690	+	65	19-10236	—	104	20-0819	+	143	19H2119	—
27	18-8738	+	66	19-10244	—	105	20-0820	+	144	19H2134	+
28	18-8771	+	67	20-0008	+	106	20-0825	+	145	20H2061	—
29	18-8789	—	68	20-0009	+	107	20-0826	+	146	20H2075	+
30	18-8825	+	69	20-0010	+	108	20-0827	+	147	20H2105	+
31	18-8826	+	70	20-0013	+	109	20-0828	+	148	20H2132	+
32	18-8900	—	71	20-0030	+	110	20-0829	+	149	20H2155	+
33	18-9151	—	72	20-0064	+	111	20-0830	—	150	20H2191	+
34	19-9058	—	73	20-0082	+	112	20-0851	+	151	20H2209	—
35	19-9059	—	74	20-0088	+	113	20-0854	+	152	20H2224	+
36	19-9063	—	75	20-0097	+	114	20-0894	+	153	20H2249	+
37	19-9109	—	76	20-0120	+	115	20-0904	+			

注: +表示扩增出特异条带; —表示未扩增出特异条带。

2.3 *Wx-B1b* 基因效应分析

2019—2022 年对龙麦系列部分优异稳定品系进行黏度仪分析,峰值黏度为 2 年或 3 年测试的平均结果(表 2)。

由表 3 可知,对照品种龙麦 26 和龙麦 30 2019—2021 年的 3 年平均峰值黏度达到极显著水平($P<0.001$)。

部分品系在 2019—2022 年结果中,峰值黏度在 *Wx-B1b* 和 *Wx-B1a* 基因型间差异也达到显著水平($P<0.05$)。

以上结果表明,在东北春小麦遗传背景下 *Wx-B1b* 对峰值黏度影响显著。

表 2 供试材料粘度仪分析结果

<i>Wx-B1a</i>		<i>Wx-B1b</i>	
材料名称	峰值黏度/BU	材料名称	峰值黏度/BU
17-7205	1050	17-7209	1142
18-8005	1145	17-7740	1108
18-8060	1098	18-8690	1108
18-8113	1060	18-8738	1141
18-8159	967	18-8771	1148
18-8654	1098	18-8825	1084
18-8660	1044	19-9225	1084
19-9058	997	19-9849	1129
19-9354	1106	20-0008	1069
19-9500	1047	20-0120	1130

表 3 龙麦对照品种及部分品系
粘度仪峰值黏度差异分析

项目	对照品种			品系		
	龙麦 26	龙麦 30	P	Wx-B1b	Wx-B1a	P
峰值黏度/BU	1121.4	879.2	0.002	1114	1061	0.012

3 讨论

我国为面条、馒头等蒸煮食品消费大国,其中面条类、馒头类分别位列第一和第二^[1,25]。研究表明,蒸煮品质与面粉淀粉特性相关密切,降低直链/支链淀粉比值使蒸煮品质得到显著改善^[7,21]。强筋小麦育种进程中,在改进籽粒蛋白质质量,提高蛋白质含量的基础上,进一步加强淀粉特性的改良,能够显著拓宽强筋小麦二次加工用途,使其更适合我国小麦消费特点。东北春麦区是中国强筋小麦重要生产基地之一,具有强筋小麦生产的各种比较优势^[2]。加强该区面包面条兼用型强筋小麦育种,对于东北春麦区“硬红春”小麦品牌建设意义重大。

Wx-B1b 基因为控制小麦直链淀粉含量的主效基因。育种过程中对 Wx-B1b 基因的准确鉴定为利用该基因发挥其品质改良作用的关键。本研究中选用的特异性分子标记能够准确鉴定 Wx-B1b 基因,可靠性高,实用性好,适合在育种中应用。

峰值黏度为 RVA 参数衡量淀粉特性的最终重要指标。峰值黏度越大,制作面条品质越好^[7-8]。本研究中,Wx-B1b 基因在对照品种和部分稳定的优异品系中对峰值黏度影响显著,表明在东北春麦区强筋小麦遗传背景下,Wx-B1b 基因对峰值黏度参数影响显著,可以将 Wx-B1b 基因作为东北春麦区面条小麦改良的主效基因。

黑龙江省农业科学院龙麦课题组多年来以高分子量麦谷蛋白亚基 5+10 作为面筋质量改良的主效基因,实现强筋小麦育种品质性状的突破,选育和推广了龙麦 26、龙麦 33 和龙麦 35 等系列强筋小麦新品种。其中,龙麦 26 在 2004 年获得国家科技进步二等奖;龙麦 33 在 2012—2017 年连续 6 年被农业农村部确定为东北春麦区小麦生产主导品种,累计推广面积 100 万 hm² 以上^[26-27];龙麦 35 现已成为东北春麦区第一主栽品种,年种植面积 100 万 hm² 以上,2022 年被农业农村部确定为春小麦生产唯一主导品种。同时经课题组多年试验检测鉴定,发现在龙麦系列品种和优异品系中,携带优质亚基 5+10 的频率可达 95% 以上,在育种进程中该亚基已成为后代选择的非限制性

因子。以上育种实践表明,以 5+10 亚基为主效基因,“龙麦”号小麦实现以面筋质量改良为突破口的面包麦育种,并取得了显著成效。为了在面包麦育种基础上进一步开展面包面条麦育种,淀粉特性的改良至关重要,在育种进程中加强 Wx-B1b 基因应用和选择势在必行。本研究结果表明在龙麦系列部分品种和优异稳定品系中该基因得到应用,但是分布比例偏低,尚未达到 5+10 亚基比例水平。在组合配制中应注重该基因的应用,后代选择过程中仍需加强选择压力,实现如 5+10 亚基应用水平,发挥 Wx-B1b 基因在东北春麦区强筋小麦淀粉特性的改良。

4 结论

Wx-B1b 基因东北春麦区强筋小麦遗传背景下,对淀粉特性影响显著,可以将其作为东北春麦区强筋小麦面条改良的主效基因。但是,在 153 份东北春麦区小麦品种(系)中,携带 Wx-B1b 基因品种(系)有 82 个,占 53.6%。因此应在未来小麦育种进程中加强 Wx-B1b 基因应用和选择力度,发挥 Wx-B1b 基因在强筋小麦改良中的作用。

参考文献:

[1] 国家小麦产业技术体系产业经济研究室. 小麦产业研究报告[R/OL]. (2023-08-16) [2023-11-01]. <https://wenku.so.com/d/5865d756b0e6beccf12e43fc92348c28>.

[2] 宋维富,杨雪峰,赵丽娟,等. 东北春麦区强筋小麦育种进展及产业发展分析[J]. 麦类作物学报,2022,42(2):171-177.

[3] 王朝辉,余文婷,党海燕,等. 国家小麦产业技术体系 2023 年全国主要麦区营养小麦品质和卫生安全状况调研:农户土壤测试评价与小麦施肥建议[R]. 2023.

[4] 王朝辉,余文婷,孙蕊卿. 国家小麦产业技术体系 2023 年全国主要麦区营养品质和卫生安全状况调研[R]. 2023.

[5] 王朝辉,罗一诺,李艳雷,等. 国家小麦产业技术体系国家小麦良种联合攻关广适性品种试验 2023 年全国小麦关键养分测试工作报告[R]. 2023.

[6] 赵丽娟,宋维富,车京玉,等. 2008—2018 年东北春麦区小麦生产与育种概况[J]. 黑龙江农业科学,2019(5):146-151.

[7] 陈东升,KIRIBUCHI-OTOBE C,徐兆华,等. Waxy 蛋白缺失对小麦淀粉特性和中国鲜面条品质的影响[J]. 中国农业科学,2005,38(5):865-873.

[8] 宋健民,刘爱峰,李豪圣,等. 小麦籽粒淀粉理化特性与面条品质关系研究[J]. 中国农业科学,2008,41(1):272-279.

[9] GUO G, JACKSON D S, GRAYBOSCH R A, et al. Asian salted noodle quality: impact of amylose content adjustments using waxy wheat flour[J]. Cereal Chemistry, 2003, 80(4): 437-445.

[10] BOGGINI G, CATTANEO M, PAGANONI C, et al. Genetic variation for waxy proteins and starch properties in Italian wheat germplasm[J]. Euphytica, 2001, 119(1): 113-116.

[11] 杨雪峰,宋维富,刘东军,等. *Glu-D1d* 与 *Wx-B1b* 基因聚合在强筋小麦育种中的利用[J]. 麦类作物学报, 2023, 43(5): 545-550.

[12] 杨雪峰,宋维富,刘东军,等. 面包面条兼用型强筋小麦主要品质性状分析与评价[J]. 麦类作物学报, 2023, 43(6): 738-743.

[13] MORRIS C F, SHACKLEY B J, KING G E, et al. Genotypic and environmental variation for flour swelling volume in wheat[J]. Cereal Chemistry, 1997, 74(1): 16-21.

[14] ZHAO X C, SHARP P J. An improved 1-D SDS-PAGE method for the identification of three bread wheat 《Waxy》 proteins[J]. Journal of Cereal Science, 1996, 23(2): 191-193.

[15] ODA M, YASUDA Y, OKAZAKI S, et al. A method of testing flour quality assessment for Japanese noodles[J], Cereal Chemistry, 1980, 57: 253-254.

[16] TOYOKAWA H, RUBENTHALER G L, POWERS J R, et al. Japanese noodle qualities. II. Starch components [J]. Cereal Chemistry, 1989, 66(5): 387-391.

[17] GRAYBOSCH R A, PETERSON C J, HANSEN L E, et al. Identification and characterization of U. S. wheats carrying null alleles at the *wx* loci[J]. Cereal Chemistry, 1998, 75(1): 162-165.

[18] BETTGE A D, GIROUX M J, MORRIS C F. Susceptibility of waxy starch granules to mechanical damage[J]. Cereal Chemistry, 2000, 77(6): 750-753.

[19] YAMAMORI M, ENDO T R. Variation of starch granule proteins and chromosome mapping of their coding genes in common wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93(1-2): 275-281.

[20] GRAYBOSCH R A. Waxy wheats: origin, properties, and prospects[J]. Trends of Food Science and Technology, 1998, 9: 135-142.

[21] 杨学举. 小麦蛋白成分和淀粉特性对面包品质的影响及品质改良应用[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.

[22] MIURA H, SUGAWARA A. Dosage effects of the three *Wx* genes on amylose synthesis in wheat endosperm[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93(7): 1066-1070.

[23] SAITO M, VRINTEN P, ISHIKAWA G, et al. A novel codominant marker for selection of the null *Wx-B1* allele in wheat breeding programs[J]. Molecular Breeding, 2009, 23(2): 209-217.

[24] 国家市场监督管理总局, 中国国家标准化管理委员会. 小麦、黑麦及其粉类和淀粉糊化特性测定快速粘度仪法: GB/T 24853—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.

[25] 宋维富, 杨雪峰, 宋庆杰, 等. 强筋小麦主要品质内涵与二次加工品质关系[J]. 黑龙江农业科学, 2017(1): 150-154.

[26] 宋庆杰, 肖志敏, 辛文利, 等. 高产优质强筋小麦新品种龙麦 33 的选育及栽培技术[J]. 黑龙江农业科学, 2011(3): 140-141.

[27] LI H J, ZHOU Y, XIN W L, et al. Wheat breeding in Northern China: achievements and technical advances[J]. The Crop Journal, 2019, 7(6): 718-729.

Molecular Detection of *Wx-B1b* Gene and Analysis of Starch Characteristics in Some Varieties (Lines) of Longmai Series

SONG Weifu, YANG Xuefeng, LIU Dongjun, ZHAO Lijuan, QIU Lin, SONG Qingjie, ZHANG Chunli, XIN Wenli

(Crop Recourse Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract:Wheat quality improvement is one of the great challenges of strong-gluten wheat breeding in the Northeast Spring Wheat Zone. The starch characteristics of wheat grains are important factors determining noodle quality. The starch characteristics are closely related to the content of amylose in wheat. The *Wx-B1b* gene is the major gene controlling the content of amylose in wheat. In order to clarify the distribution of this gene in the Longmai series varieties (lines) and provide useful information for quality improvement in bread and noodle type strong gluten wheat breeding, 153 wheat varieties (lines) were detected by *Wx-B1b* gene specific molecular markers in this study. And the influence of this gene on starch characteristics in the genetic background of strong gluten wheat in the northeast spring wheat region were analyzed. The results showed that this specific marker can accurately identify the *Wx-B1b* gene. Among the 153 materials detected, 82 materials contained the *Wx-B1b* gene, accounting for 53.6%. The peak viscosity of the viscometer showed a significant difference ($P<0.05$) between the *Wx-B1b* and *Wx-B1a* genotypes, indicating that it was the main gene for improving starch properties. Therefore, in the spring wheat region of Northeast China, in order to further improve the breeding efficiency of bread and noodle type strong gluten wheat, *Wx-B1b* gene should be used and selected in parent pairing, off spring selection, and stable strain treatment.

Keywords:wheat; breeding; Longmai series; stable strain; *Wx-B1b* gene