

网络出版时间:2026-06-30

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20260630.1141.002>

小麦 HMG 家族鉴定及其对干旱与磷胁迫的响应

刘伟^{1,2}, 郝水源^{1,2}, 卢倩倩^{1,2}, 陈龙^{1,2}

(1. 河套学院农牧与食品学院, 内蒙古巴彦淖尔 015000; 2. 河套地区绿色农产品安全生产与预警控制实验室, 内蒙古巴彦淖尔 015000)

摘要: 高迁移率族蛋白(HMG)是真核生物染色质动态调控的关键因子。为了解小麦 HMG 家族在干旱和磷饥饿胁迫下的动态响应规律, 基于普通小麦参考基因组(IWGSC Ref Seq V1.0), 通过生物信息学方法鉴定 TaHMG 家族成员, 对其理化性质、系统进化、共线性及启动子顺式作用元件进行分析, 并整合公共转录组数据与 qRT-PCR, 检测该家族成员的组织表达特性, 及其在干旱胁迫(15% PEG6000)和缺磷胁迫(0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pi)不同时间(0、1、3、6、12、24 h)的表达模式。结果表明, 共鉴定出 32 个 TaHMG 基因, 系统进化分析将其划分为 HMGA(9 个)和 HMGB(23 个)两个亚家族; 共线性分析表明该家族进化受纯化选择主导; 启动子分析显示, TaHMG 基因富含脱落酸(ABRE)及茉莉酸甲酯等激素与胁迫响应元件。qRT-PCR 检测出 Ta-6D-HMGB1、Ta-3D-HMGB1 及 Ta-7D-HMGB2 在叶片中高表达, Ta-2D-HMGB1、Ta-5A-HMGB1 和 Ta-7D-HMGB1 在茎中高表达。干旱胁迫下, 5 个 TaHMG 基因在处理早期(3 或 6 h)即被快速诱导, 而 Ta-7D-HMGB2 呈现先抑制(0~3 h)后上调(6 h)的表达模式; 缺磷胁迫下, 不同 TaHMG 基因表达高峰出现在处理后 12 或 24 h。综上, 小麦 HMG 家族基因通过差异化表达适应非生物胁迫, 其中 Ta-7D-HMGB2、Ta-3D-HMGB1 等胁迫响应基因可作为抗逆分子育种的候选基因。

关键词: 小麦; HMG 家族; 干旱胁迫; 磷胁迫; 基因表达

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2026)08-1029-12

Identification of the HMG Family in Wheat and Its Response to Drought and Phosphorus Starvation Stresses

Liu Wei^{1,2}, Hao Shuiyuan^{1,2}, Lu Qianqian^{1,2}, Chen Long^{1,2}

(1. College of Agriculture, Animal Husbandry and Food Science, Hetao College, Bayannur, Inner Mongolia 015000, China; 2. Hetao Area Green Agricultural Product Safety Production and Early Warning Control Laboratory, Bayannur, Inner Mongolia 015000, China)

Abstract: High mobility group (HMG) proteins are key regulators of chromatin dynamics in eukaryotes. To investigate the dynamic responses of the wheat HMG family to drought and phosphate starvation, a genome-wide identification of the TaHMG genes was performed based on the common wheat reference genome(IWGSC Ref Seq V1.0). Bioinformatic analyses were conducted to determine the physicochemical properties, phylogeny, collinearity, and promoter cis-elements of the family members. Public transcriptome data and quantitative real-time PCR(qRT-PCR) were integrated to examine tissue-specific expression patterns and temporal expression profiles under drought stress (15% PEG6000; 0, 1, 3, 6, 12, and 24 h) and phosphate starvation(0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pi; 0, 1, 3, 6, 12, and 24 h). A total of 32 TaHMG genes were identified, which were phylogenetically divided into two subfamilies: HMGA(9 members) and HMGB(23 members). Collinearity analysis indicated that the family evolved predominantly under purifying selection. Promoter analysis revealed that TaHMG

收稿日期:2026-02-14 修回日期:2026-05-19

基金项目: 黄河流域硬质小麦产业化能力提升“科技兴蒙”行动重点专项(NMKJXM202201); 巴彦淖尔市科技计划项目(NMKJXM202408)

第一作者 E-mail: 2091039050@qq.com(刘伟)

通讯作者 E-mail: 15774711140@163.com(陈龙)

genes are enriched in hormone and stress-responsive elements, including abscisic acid (ABRE) and methyl jasmonate (MeJA)-responsive motifs. qRT-PCR showed that *Ta-6D-HMGB1*, *Ta-3D-HMGB1* and *Ta-7D-HMGB2* were highly expressed in leaves, whereas *Ta-2D-HMGB1*, *Ta-5A-HMGB1*, and *Ta-7D-HMGB1* were highly expressed in stems. Under drought stress, five *TaHMG* genes were rapidly induced at early stage (3 or 6 h), while *Ta-7D-HMGB2* was initially suppressed (0–3 h) and subsequently up-regulated (6 h). Under phosphate starvation, expression peaks of different members occurred at 12 or 24 h post treatment, revealing temporal specificity and functional divergence among genes. Collectively, members of the wheat HMG family adapt to abiotic stresses through differential expression, and stress-responsive genes such as *Ta-7D-HMG2* and *Ta-3D-HMGB1* represent promising candidates for molecular breeding of stress tolerance.

Keywords: *Triticum aestivum*; HMG family; Drought stress; Phosphorus stress; Gene expression

高迁移率族蛋白 (HMG) 是一类广泛存在于真核生物中的非组蛋白, 因其在凝胶电泳中的高迁移速率而得名^[1]。该蛋白家族通过其保守的 HMG-box 结构域, 能以非序列特异性方式结合 DNA, 从而广泛参与染色质组装、基因转录调控、DNA 损伤修复等核心细胞过程^[2-3]。植物中, 根据序列特征与 DNA 结合特性, HMG 蛋白主要分为 HMGA、HMGB 和 HMGN 三个亚家族^[2]。其中, HMGB 蛋白已被证实作为水杨酸结合蛋白参与先天免疫调控^[4]。据报道, 山新杨 (*Populus davidiana* × *P. bolleana*) *HMG2*、水稻 (*Oryza sativa*) *OsHMGB707* 等基因可快速响应盐和干旱胁迫, 通过调控下游基因表达提升植株耐逆性^[5-7]。研究表明, HMG 蛋白可通过介导染色质结构重塑与转录重编程, 在植物适应逆境过程中发挥核心作用。该基因家族在菠菜 (*Spinacia oleracea*)^[8]、甘蓝型油菜 (*Brassica napus*)^[9] 及灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea*)^[10] 等被证实参与生长发育及胁迫响应过程。

小麦中已初步鉴定出 30 个 *TaHMGB* 成员, 其中 *TaHMGB11* 在干旱与高盐胁迫中发挥负调控功能^[11]。目前对小麦 HMG 家族还缺乏系统性认知, 家族成员响应磷胁迫的转录调控规律尚不清楚。因此, 本研究以普通小麦为材料, 对小麦 HMG 家族进行全基因组水平的系统鉴定与生物信息学分析, 基于转录组数据筛选响应逆境的 *TaHMG* 基因, 分析其在干旱与缺磷胁迫下的动态响应模式。

1 材料与方法

1.1 材料处理

试验材料为普通小麦品种永良 4 号, 由内蒙

古河套地区绿色农产品安全生产与预警控制实验室种质资源库提供。选取籽粒饱满、大小均匀的种子, 经蒸馏水浸种 24 h 后, 置于铺有两层无菌纱布的培养盆中进行发芽。待胚根伸长至 2~3 cm 时, 将幼苗转移至水培盒, 采用 pH 5.8~6.2 的霍格兰营养液培养至两叶一心期, 分别进行干旱与磷胁迫处理。

水培营养液设置: (1) 改良型霍格兰营养液 (Coolaber, 北京, 中国) (对照); (2) 含 15% (W/V) PEG6000 的霍格兰营养液 (干旱胁迫); (3) 缺磷改良型霍格兰营养液 (Coolaber, 北京, 中国) (缺磷胁迫)。每处理 3 次生物学重复, 每个重复内每个时间点均独立设置 10 株幼苗。分别于干旱及磷胁迫处理后 0、1、3、6、12、24 h 进行取样, 每次采集各重复内幼苗第二片完全展开叶, 每重复取 5 株的叶片混合样。不同组织 qRT-PCR 取样: 分别采集对照的根、茎、叶组织样本, 每次取样将同一重复内剩余 5 株幼苗的相同组织混合, 置于同一离心管中, 立即液氮速冻, 随后转移至 -80 °C 冰箱保存, 后续利用宝生物工程 (大连) 有限公司的总 RNA 提取试剂盒提取小麦样品总 RNA, 通过 RNA 反转录试剂盒获得 cDNA。

1.2 方法

1.2.1 小麦 HMG 家族成员鉴定与理化性质

以从 Tair 数据库 (<https://www.arabidopsis.org>) 获取的拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) HMG 蛋白序列 (HMGA: AT1G14900.1; HMGB: AT3G28730.1 等 16 条) (表 1) 为查询序列, 结合两种策略对小麦蛋白数据库 (IWGSC RefSeq V1.0) 进行搜索: ①使用 TBtools 进行 Blastp 同源搜索 ($E \leq 10^{-5}$)^[12]; ②基于 Pfam 数据库^[13] 结构域隐马尔可夫模型 (HMGA 特征为 AT-hook+H1/H5 结构域, HMGB

表 1 拟南芥 HMG 家族成员的基因 ID 与功能注释表

Table 1 Gene IDs and functional annotations of *Arabidopsis thaliana* HMG family members

家族成员分类 Family member classification	基因 ID Gene ID	基因注释 Gene annotation
HMGA	AT1G14900.1	编码一种属于 HMGA(高迁移率 A 组)蛋白质亚群的蛋白质,该蛋白质与富含 A/T 的 DNA 片段相互作用。
	AT4G35570.1	编码一种属于 HMGB(高迁移率 B 组)蛋白亚群的蛋白质,该蛋白质具 HMG-box 结构域;不能被 ck2 α 磷酸化。
	AT1G20696.2	
	AT2G17560.1	编码一种属于 HMGB(高迁移率 B 组)蛋白亚群的蛋白质,该蛋白质具有 HMG-box 结构域;可以被 ck2 α 磷酸化。
	AT3G51880.2	
	AT1G20693.1	
	AT4G23800.1	
	AT4G11080.1	编码含有三份 HMG(高迁移率组)盒子结构域的蛋白质。与有丝分裂和减数分裂染色体相互作用。
	AT2G34450.2	
	AT5G23405.1	HMG-box(高迁移率组)DNA 结合家族蛋白。
HMGB	AT1G55650.1	
	AT3G13350.1	HMG(高迁移率组)盒子蛋白与含有 ARID/BRIGHT DNA 结合结构域的蛋白。
	AT1G76110.1	含有 ARID/BRIGHT DNA 结合结构域的高迁移率族(HMG)框蛋白。
	AT5G23420.1	编码 HMGB6,一种属于 HMGB(高迁移率 B 组)蛋白亚群的蛋白质。
	AT3G28730.1	编码促进染色质转录(FACT)复合体 SSRP1 的一个成分;STP16 与 FLC 的启动子结合。
	AT1G04880.1	编码一种 RID-HMG DNA 结合蛋白,通过与转录因子 AGL66 和 AGL104 相互作用调控基因表达,在花粉管生长中起作用。
	AT1G23420.1	对胚珠外被的形成和不对称生长至关重要。该家族的转录因子含有明显的 Cys(2)-Cys(2)锌指结构域和与高迁移率组(HMG)转录因子。

特征为 HMG-box 结构域)的 HMMER 搜索($E \leq 10^{-5}$)。取两种结果的交集,利用 SMART^[14]、NCBI-CDD 及 Pfam 在线工具进行保守结构域交叉验证,保留同时满足完整结构域特征的成员(HMGA 需同时含有 AT-hook 和 H1/H5,HMGB 需含有 HMG-box),最终确定为小麦 HMG 家族成员。根据结构域组成划分为 HMGA 与 HMGB 亚家族,按染色体物理位置及鉴定顺序系统命名(如 Ta-1A-HMGA1)。

利用 ExPASy ProtParam(<https://web.expasy.org/protparam/>)^[15]分析氨基酸数目、分子量、理论等电点等理化性质,PSORT^[16]预测亚细胞定位。

1.2.2 染色体定位、共线性与系统进化

基于小麦 GFF3 注释文件,利用 TBtools 绘制 *TaHMG* 基因的染色体定位分布图。使用 MCScanX 进行小麦种内及与水稻、大麦(*Hordeum vulgare*)间的全基因组共线性分析,通过 TBtools 可视化。选取共线性同源基因对,利用 TBtools 计算非同义替换率(Ka)与同义替换率(Ks)的比值(Ka/Ks),判断选择压力类型。从 Ensembl Plants 数据库下载大麦、水稻、玉米(*Zea mays*)及拟南芥的基因组数据,采用与小麦相同的方法鉴定上述物种的 HMG 同源蛋白。使用

MEGA 6.0 以邻接法(Bootstrap=1 000)构建系统进化树,通过 TVBOT 在线工具优化。

1.2.3 基因结构、保守基序与启动子元件

利用 MEME 在线程序(最大基序数=10)分析蛋白保守基序,结合 NCBI-CDD 验证。基于小麦 GFF3 注释文件解析各基因的外显子-内含子结构。提取各基因转录起始位点上游 2 000 bp 的启动子序列,利用 PlantCARE 数据库预测顺式作用元件类型及分布,通过 TBtools 整合展示。

1.2.4 小麦 HMG 家族成员时空及胁迫表达模式

从 WheatOmics(<http://wheatomics.sdau.edu.cn>)数据库获取相关转录组数据,涵盖小麦品种中国春(Chinese Spring)五叶期的根、茎、叶、穗、籽粒组织,不同胁迫处理下的表达谱,包括热胁迫(1 和 6 h)、磷饥饿(根、叶)、低温(4 ℃)处理,盐胁迫下中国春(CS)与优质强筋小麦 QM 不同时间点的表达,以及埃及小麦品种 Giza 168 与 Gemmiza 10 在干旱胁迫(PEG 处理 6、12、24、48 h)下的数据,利用 TBtools 软件对获取的基因表达量(TPM 值)进行标准化处理,绘制热图以直观展示 *TaHMG* 基因在不同组织及胁迫条件下的相对表达水平。

1.2.5 干旱及磷胁迫下 *TaHMG* 基因表达

基于 1.2.4 中公共转录组表达谱数据,筛选出

7 个响应逆境胁迫的候选基因 (*Ta-2D-HMGB1*、*Ta-3D-HMGB1*、*Ta-5A-HMGB1*、*Ta-6D-HMGB1*、*Ta-6D-HMGB2*、*Ta-7D-HMGB1* 和 *Ta-7D-HMGB2*)，以不同处理小麦样本的 cDNA 为模板，进行 qRT-PCR 实时荧光定量分析，利用 Primer Premier 5.0 软件设计引物(表 2)。反应体系为 20 μ L，具体组分、体积及扩增程序参照 GoTaq[®] qPCR Master Mix 试剂盒说明书进行。

1.3 数据处理与分析

小麦*TaHMG* 基因的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[17]计算。用 SPSS 27.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA)，评估不同处理组间的表达差异，利用 Tukey’s HSD 检验进行多重比较。使用 GraphPad Prism 9.5 软件绘制表达量柱状图。所有统计分析均以 $P < 0.05$ 为差异显著性标准。

2 结果与分析

2.1 小麦 HMG 家族成员鉴定与理化性质分析

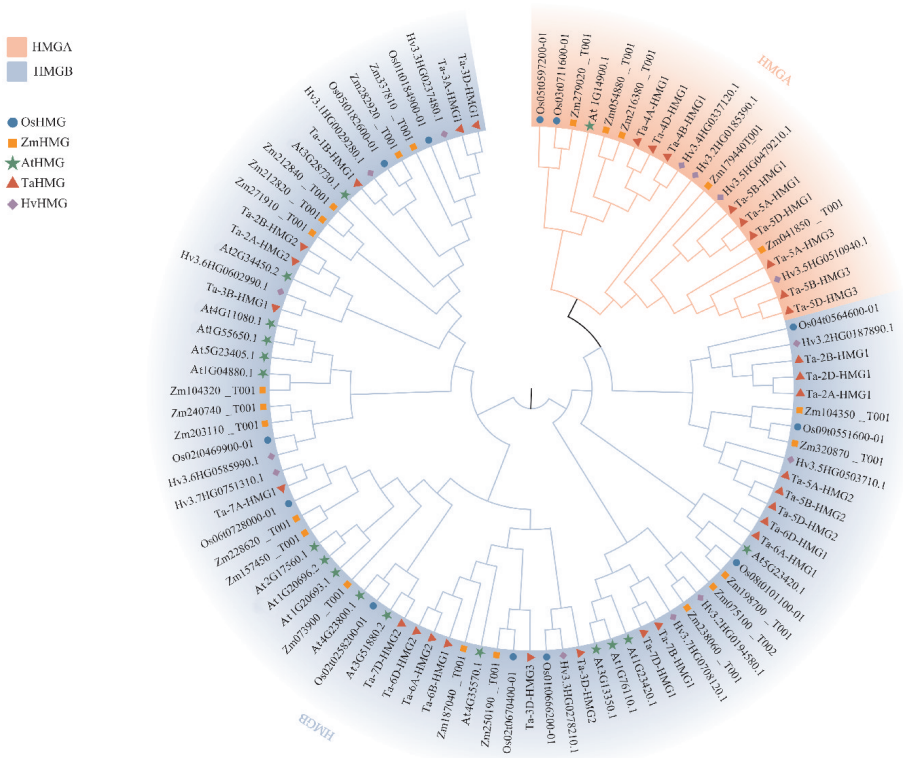
本研究共鉴定出 32 个小麦 HMG 家族成员，根据结构域特征划分为 HMGA(9 个)和 HMGB(23 个)两个亚家族(图 1)，其基因按染色体位置

与鉴定顺序系统命名(如*Ta-4A-HMGA1*、*Ta-1A-HMGB1* 等)。蛋白理化性质分析(表 3)表明，TaHMG

表 2 小麦 qRT-PCR 引物序列

Table 2 Primer sequences used for qRT-PCR in *Triticum aestivum*

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence(5'—3')
Ta-2D-HMGB1-F	GTTTAGATGCGTGCTCCTGG
Ta-2D-HMGB1-R	CTGTGGAGGTCCACGAAAGAA
Ta-3D-HMGB1-F	GTTGTCCTGGATCCGAGTGG
Ta-3D-HMGB1-R	CAACCACAGGCACGACACTA
Ta-5A-HMGB1-F	GTTGTCCTGGATCCGAGTGG
Ta-5A-HMGB1-R	CAACCACAGGCACGACACTA
Ta-6D-HMGB1-F	GCAGGTTATGCCTACTGCCT
Ta-6D-HMGB1-R	AACCCACAGCATTTTCATGCG
Ta-6D-HMGB2-F	GGGGGCCCTTTTAGACTTGT
Ta-6D-HMGB2-R	GCATTGGAACAGCTGGTAGC
Ta-7D-HMGB1-F	TGTCCTGGGCAACCTGAATC
Ta-7D-HMGB1-R	ATCGACCACCACATCAACCC
Ta-7D-HMGB2-F	TGCCCTGCTTGACTAGTA
Ta-7D-HMGB2-R	TGGGGCGACAACAGCTTAAT
Actin-F	CTGGAATGGTCAAGGCTGGT
Actin-R	TTGAGCTTCATCGCCACAT



Os: 水稻; Zm: 玉米; At: 拟南芥; Ta: 小麦; Hv: 大麦。
Os: *Oryza sativa*; Zm: *Zea mays*; At: *Arabidopsis thaliana*; Ta: *Triticum aestivum*; Hv: *Hordeum vulgare*.

图 1 小麦与其他植物 HMG 家族成员系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic evolutionary tree of HMG family members in *T. aestivum* and other plant species

表 3 小麦 HMG 家族基本信息
Table 3 Summary the HMG family in *T. aestivum*

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	编码氨基酸 Encoded amino acid	分子量 Molecular weight/kD	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	脂肪系数 Aliphatic index	平均亲水性系数 Average of hydropathicity	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>Ta-1B-HMGB1</i>	TraesCS1B02G140400.1	638	70.94	5.36	40.83	75.78	−0.624	细胞核 Nucleus
<i>Ta-2A-HMGB1</i>	TraesCS2A02G404100.1	121	12.97	7.83	48.53	31.74	−1.177	
<i>Ta-2A-HMGB2</i>	TraesCS2A02G445000.1	544	61.75	9.69	56.68	59.34	−1.178	
<i>Ta-2B-HMGB1</i>	TraesCS2B02G422000.1	120	12.95	8.69	48.22	31.17	−1.204	
<i>Ta-2B-HMGB2</i>	TraesCS2B02G466000.1	546	61.76	9.62	56.30	58.81	−1.184	
<i>Ta-2D-HMGB1</i>	TraesCS2D02G401100.1	121	13.02	7.83	48.45	34.13	−1.139	
<i>Ta-3A-HMGB1</i>	TraesCS3A02G111900.1	654	72.13	6.41	38.62	73.64	−0.594	
<i>Ta-3B-HMGB1</i>	TraesCS3B02G270900.1	240	27.25	10.36	78.99	50.88	−0.912	
<i>Ta-3D-HMGB1</i>	TraesCS3D02G114000.2	655	72.45	6.19	37.80	72.17	−0.636	
<i>Ta-3D-HMGB2</i>	TraesCS3D02G242800.1	129	15.10	9.81	67.30	39.38	−1.277	
<i>Ta-3D-HMGB3</i>	TraesCS3D02G497500.1	167	18.67	9.19	45.65	51.44	−0.744	叶绿体 Chloroplast
<i>Ta-4A-HMGA1</i>	TraesCS4A02G268000.1	232	24.10	6.35	81.54	64.53	−0.624	
<i>Ta-4B-HMGA1</i>	TraesCS4B02G046400.1	228	23.42	8.03	71.36	69.96	−0.466	
<i>Ta-4D-HMGA1</i>	TraesCS4D02G045700.1	232	24.04	8.01	78.23	64.09	−0.629	
<i>Ta-5A-HMGA1</i>	TraesCS5A02G204700.1	189	19.46	10.35	43.84	55.50	−0.789	
<i>Ta-5A-HMGB1</i>	TraesCS5A02G352100.1	126	13.77	8.91	31.86	42.78	−1.237	
<i>Ta-5A-HMGA2</i>	TraesCS5A02G390500.1	173	18.38	10.38	46.12	55.61	−0.931	
<i>Ta-5B-HMGA1</i>	TraesCS5B02G203600.1	189	19.32	10.43	48.06	51.48	−0.825	
<i>Ta-5B-HMGB1</i>	TraesCS5B02G354800.1	124	13.67	9.24	27.89	40.24	−1.289	
<i>Ta-5B-HMGA2</i>	TraesCS5B02G395400.1	161	17.12	10.28	44.82	57.95	−0.926	
<i>Ta-5D-HMGA1</i>	TraesCS5D02G211400.1	189	19.46	10.31	45.61	54.02	−0.838	细胞核 Nucleus
<i>Ta-5D-HMGB1</i>	TraesCS5D02G359600.1	124	13.60	9.10	28.93	41.85	−1.248	
<i>Ta-5D-HMGA2</i>	TraesCS5D02G400300.1	161	17.14	10.28	48.12	60.93	−0.904	
<i>Ta-6A-HMGB1</i>	TraesCS6A02G189700.1	454	50.85	8.23	45.23	62.58	−0.825	
<i>Ta-6A-HMGB2</i>	TraesCS6A02G253900.1	139	15.39	6.45	41.46	28.99	−1.529	
<i>Ta-6B-HMGB1</i>	TraesCS6B02G271600.1	139	15.40	8.56	38.08	28.99	−1.531	
<i>Ta-6D-HMGB1</i>	TraesCS6D02G180000.1	454	50.79	7.75	49.05	62.80	−0.829	
<i>Ta-6D-HMGB2</i>	TraesCS6D02G235400.1	139	15.40	6.46	43.03	28.99	−1.529	
<i>Ta-7A-HMGB1</i>	TraesCS7A02G552400.1	161	17.21	6.48	37.77	41.55	−1.253	
<i>Ta-7B-HMGB1</i>	TraesCS7B02G230000.1	215	23.62	5.10	46.06	57.77	−1.013	
<i>Ta-7D-HMGB1</i>	TraesCS7D02G326200.1	216	23.68	5.03	41.63	56.62	−1.032	细胞核 Nucleus
<i>Ta-7D-HMGB2</i>	TraesCS7D02G538400.1	135	14.70	4.88	45.49	40.74	−1.288	

蛋白长度 120~655 aa,分子量 12.95~72.45 kD,等电点 4.88~10.43(其中 21 个为碱性蛋白);25 个成员为不稳定蛋白(不稳定系数>40);所有成员平均亲水系数均为负值(−1.531~−0.594),属亲水性蛋白。亚细胞定位预测显示,27 个蛋白成员位于细胞核,5 个基因(*Ta-4B-HMGA1*、*Ta-4D-HMGA1*、*Ta-5A-HMGA2*、*Ta-5B-HMGA2*、*Ta-5D-HMGA2*)编码蛋白定位于叶绿体。

2.2 系统进化、染色体分布与共线性分析

系统进化树(图 1)包含小麦(32 个)、拟南芥(17 个)、玉米(23 个)、大麦(14 个)和水稻(12 个)共 98 个 HMG 蛋白,分为 HMGA 和 HMGB 两大分支。拟南芥仅 1 个成员(*At1G14900.1*)属 HM-

GA 分支,其余属 HMGB 分支;小麦 HMGB 亚家族成员(23 个)显著多于 HMGA(9 个)。染色体定位显示(图 2),32 个*TaHMG* 基因分布于 19 条染色体,每条 1~3 个,其中 3D、5A、5B、5D 各含 3 个,1A 和 1D 染色体上无分布。物种内共线性分析发现(图 3A)46 个*TaHMG* 共线基因对,其中 29 个基因对满足序列相似度和同义位点的要求,所计算的 Ka/Ks 值均小于 0.5,说明该家族进化中经历多次基因复制事件且主要受纯化选择。跨物种共线性分析显示(图 3B),小麦与大麦间有 34 对直系同源基因,小麦与水稻间有 35 对,表明核心成员在禾本科祖先中已基本分化完成,并在多倍化进程中保持稳定的共线性结构。

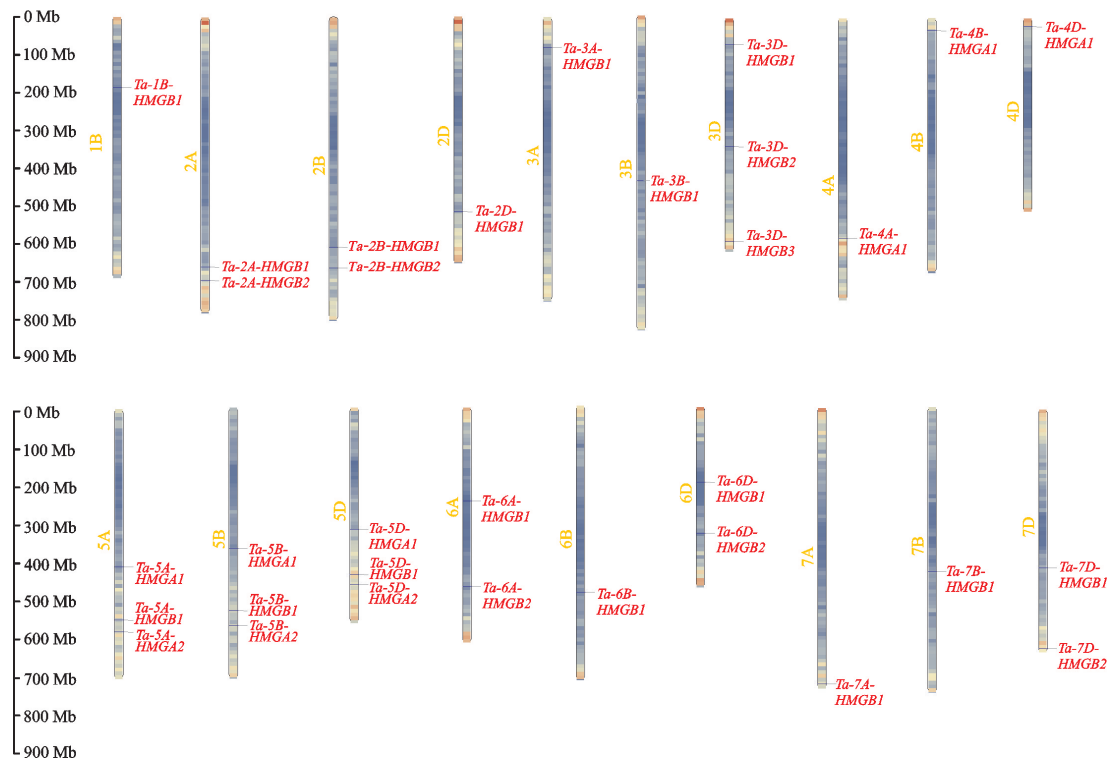
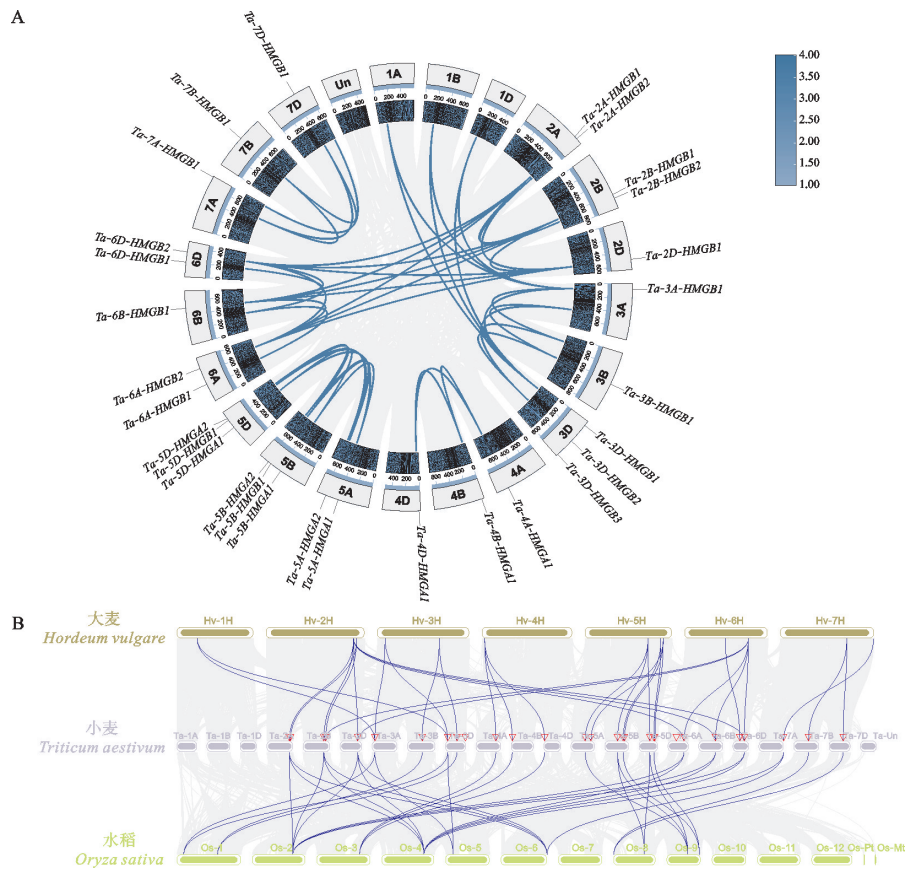


图 2 *TaHMG* 基因染色体定位
Fig. 2 Chromosome localization of *TaHMG* gene



A: 种内; B: 种间。
A: Intraspecific; B: Interspecific.

图 3 小麦 *TaHMG* 共线性分析
Fig. 3 Collinearity analysis of *TaHMG* from *T. aestivum*

2.3 基因结构及保守基序分析

保守基序与基因结构整合分析(图 4)表明,同一进化分支成员基序组成相似,HMGB 分支普遍含 Motif 1、2、5,HMGA 分支全部含 Motif 3、4、5、6。10 个保守基序中 Motif 2 分布最广(20 个成员),不同基序长度(28~50 aa)与组成差异反映了功能分化。蛋白结构域分析显示,HMGB 成员主要含典型 HMG-box 结构域(Ta-7B-HMGB1 仅含 NHP6B superfamily),HMGA 成员含典型 H15 结构域。基因结构上,HMGB 成员通常拥有更多 CDS 区域。

2.4 启动子顺式作用元件分析

本研究提取 TaHMG 各成员翻译起始位点上游 2 000 bp 启动子序列,进行顺式作用元件预测。结果表明(图 5A),该家族基因启动子区广泛分布多种激素应答及非生物胁迫响应相关元件。

干旱诱导元件 MBS 共检出 25 次(图 5B),分布于 16 个 TaHMG 成员中,覆盖家族成员总数的 64%,表明干旱响应是该家族基因转录调控网络的重要组成部分。此外,启动子区还检测到其他非生物胁迫相关元件,其中厌氧诱导元件 ARE 出现频次最高,在 25 个成员中共计 56 次;低温响应元件 LTR 分布于 18 个成员,共计 31 次。

激素应答元件中以脱落酸响应元件 ABRE 数量最多,共计 128 个,广泛分布于各成员启动子区(图 5B)。茉莉酸甲酯响应相关元件 CGTCA-motif 与 TGACG-motif 出现次数完全一致,均为 117 次,且在所有 TaHMG 成员中协同存在,提示二者可能通过组合方式协同增强对茉莉酸信号的转录应答。相对而言,生长素应答元件 TGA-element 分布较少,仅在 12 个成员中出现 15 次,频次明显低于上述激素及非生物胁迫相关元件。

综上,TaHMG 基因启动子区富含多种逆境相关顺式作用元件,其中干旱诱导元件 MBS 的普遍存在,为进一步解析该家族成员在干旱胁迫中的功能分化提供了关键线索。

2.5 基于公共转录组数据的逆境表达模式分析

利用公共转录组数据分析了小麦 TaHMG 基因在热、磷、盐、低温及干旱胁迫下的表达动态。结果(图 6)显示,不同胁迫下 TaHMG 基因呈现胁迫特异性和品种依赖性的多样化表达模式。

在热胁迫下(图 6A),Ta-6D-HMGB2、Ta-7B-HMGB1 等基因持续上调(热激 0 h<热激 1 h<热激 6 h);Ta-2D-HMGB1、Ta-2A-HMGB1、Ta-4D-HMGA1 等基因持续下调;Ta-2B-HMGB2 无变化。另有 10 个成员(Ta-5B-HMGB1、Ta-5A-HMGA2 等)

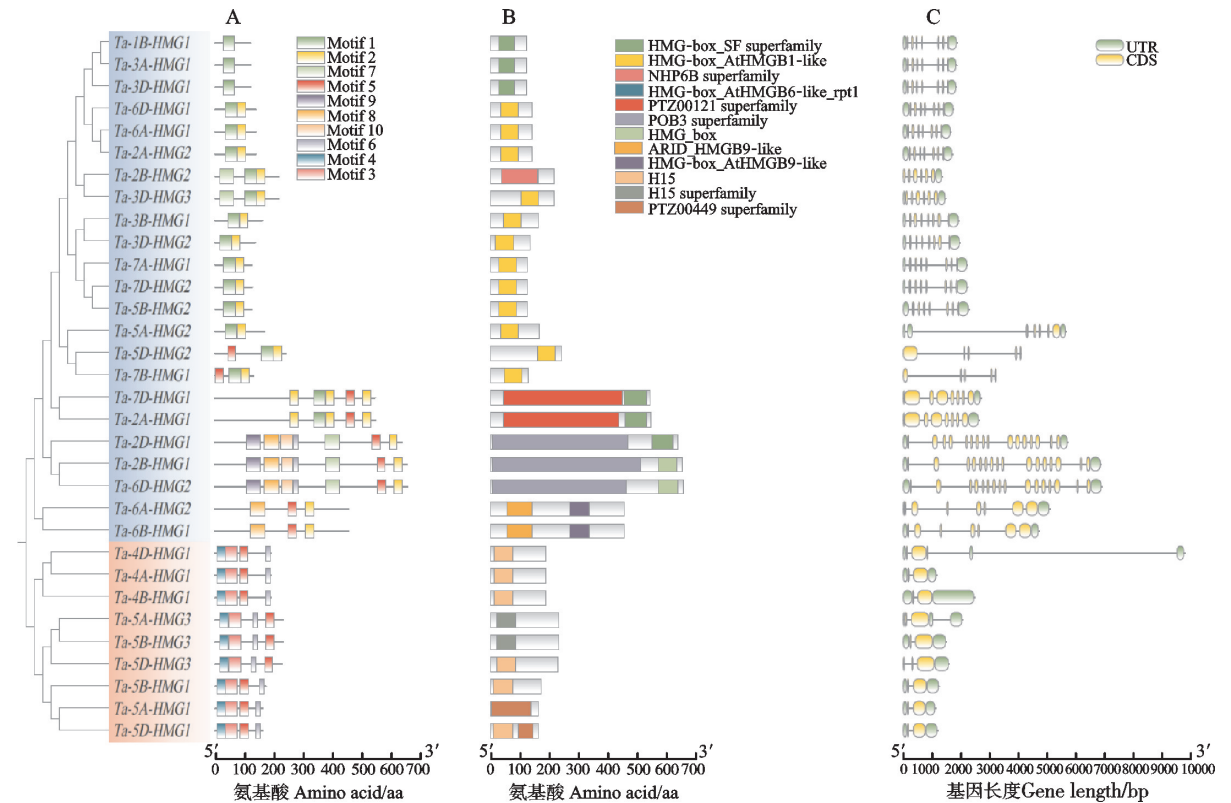


图 4 小麦 HMG 家族保守基序(A)、蛋白保守结构域(B)和基因结构(C)分析

Fig. 4 Analysis of conserved motifs(A), conserved domains(B), and gene structures(C) of the HMG family in *T. aestivum*

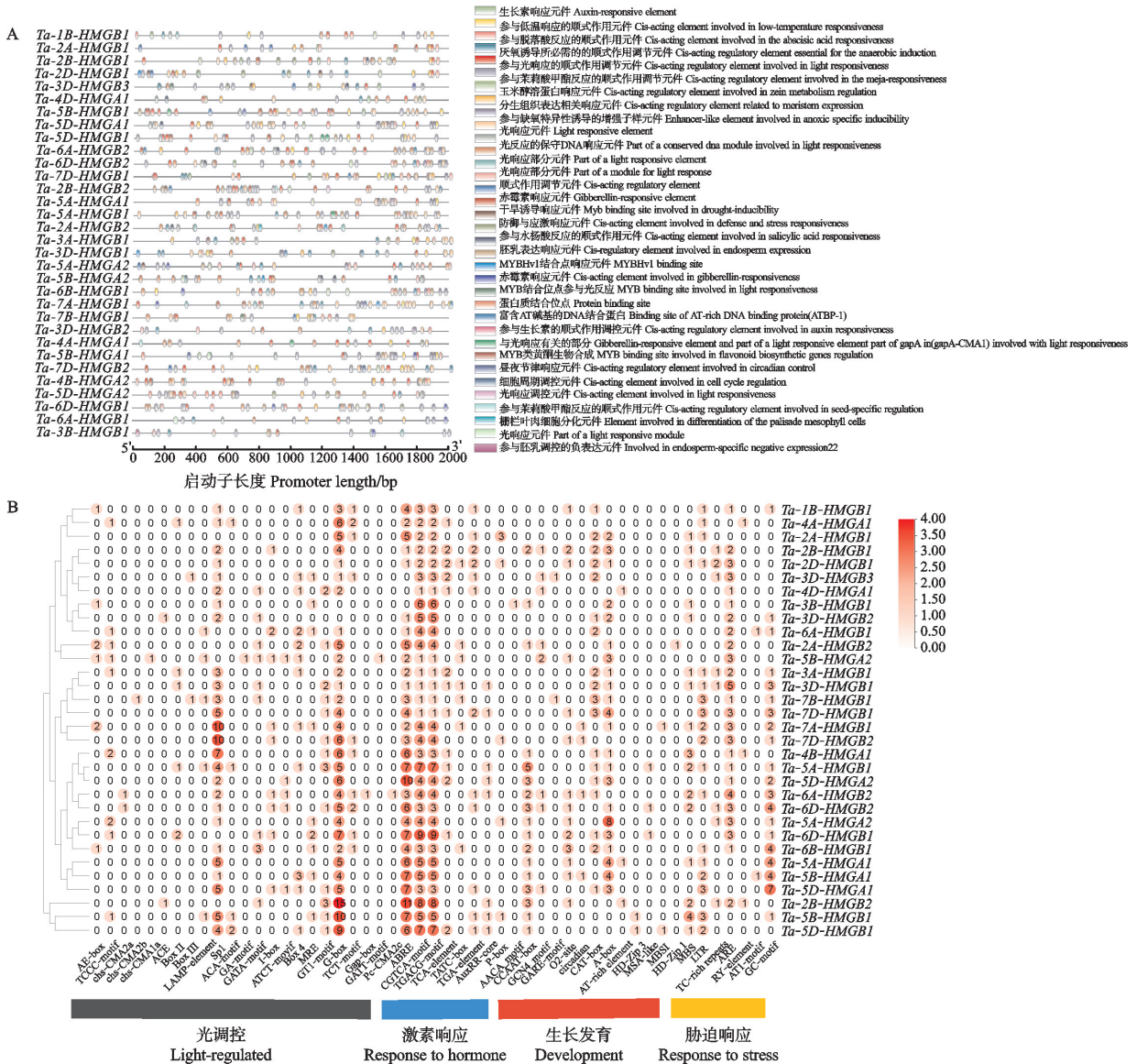


图 5 *TaHMG* 基因启动子区顺式作用元件 (A) 及响应元件 (B)
Fig. 5 Cis-acting elements(A) and response elements(B) in the promoter region of *TaHMG* genes

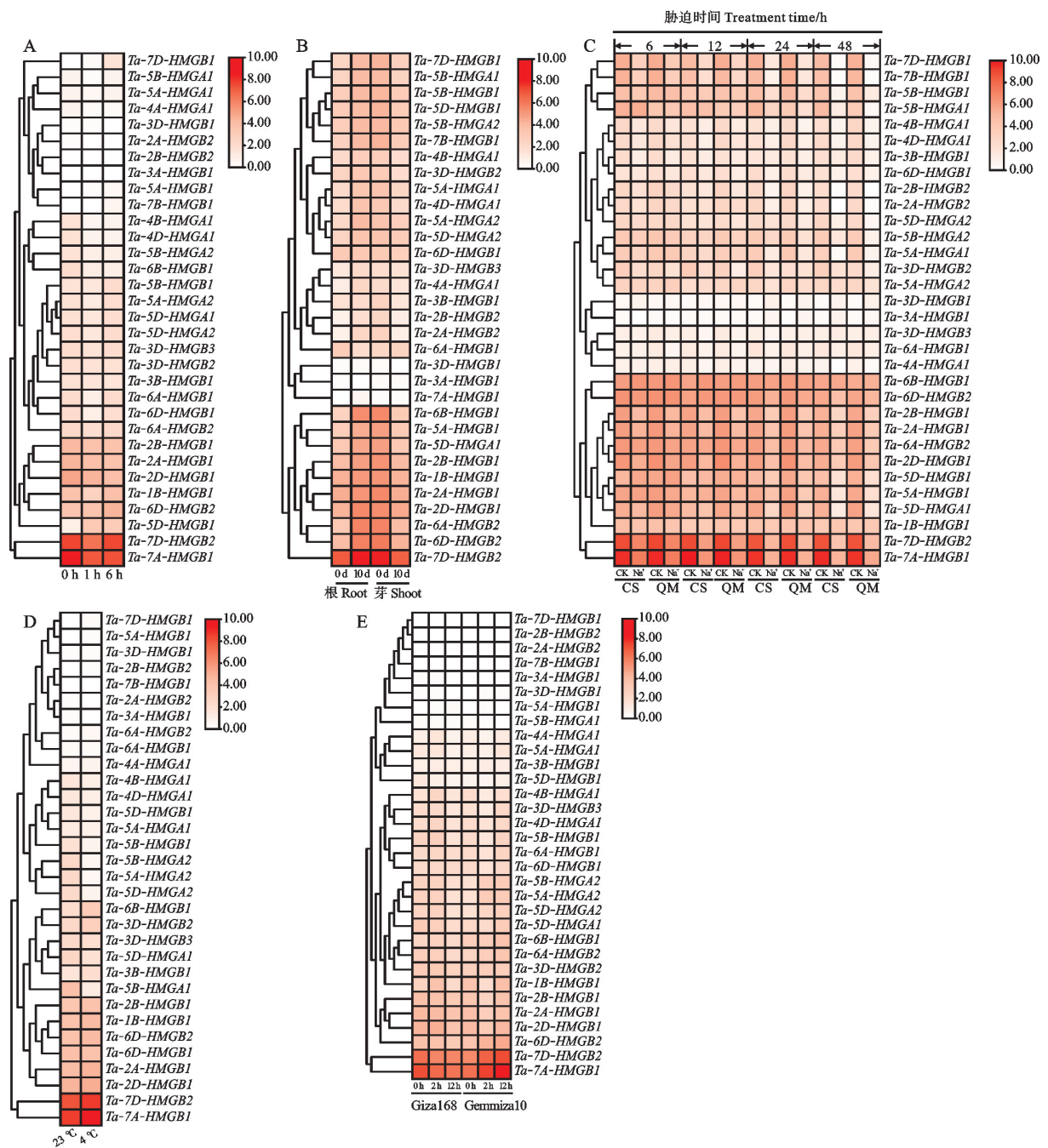
在热诱导后 6 h 回落。

在磷饥饿胁迫下(图 6B),根与地上部表达相反。根中 10 个成员(*Ta-6B-HMGB1*、*Ta-5A-HMGB1* 等)上调,*Ta-6A-HMGB1* 和 *Ta-3A-HMGB1* 下调,*Ta-3D-HMGB1* 不变;地上部,根上调基因及 *Ta-3D-HMGB1* 均下调,*Ta-6A-HMGB1* 上调,*Ta-7A-HMGB1* 无变化。

在盐胁迫下(图 6C),小麦品种 CS 与 QM 差异显著。CS 中上调基因动态更替:6 h 以 *Ta-6B-HMGB1* 等 3 个为主,12 h 新增 *Ta-1B-HMGB1*、*Ta-5B-HMGA1* 和 *Ta-6B-HMGB2*,24 h 转为 *Ta-3D-HMGB1*、*Ta-3A-HMGB1*,48 h 激活 *Ta-1B-HMGB1*、*Ta-3D-HMGB3*。QM 中上调基因较少:6 h 共 5 个,12 h 减至 2 个,24~48 h 以 *Ta-1B-*

HMGB1、*Ta-3D-HMGB1* 等 4 个基因为主。两个品种下调基因数均随胁迫时间延长而增加。

低温胁迫下(图 6D),4 ℃ 处理诱导 16 个成员上调(*Ta-7A-HMGB1*、*Ta-7D-HMGB2* 等),*Ta-3D-HMGB1* 无变化,其余下调。干旱胁迫下(图 6E),小麦品种 Giza 168 与 Gemmiza 10 策略相反。Giza 168 以抑制为主:仅 *Ta-5A-HMGB1* 持续上调;12 个基因(*Ta-4B-HMGA1*、*Ta-2D-HMGB1* 等)在上调 2 h 后下调;11 个基因(*Ta-2B-HMGB1*、*Ta-5D-HMGB1* 等)持续下调,其中 *Ta-7A-HMGB1* 降幅最大;*Ta-7D-HMGB1* 和 *Ta-2B-HMGB2* 无响应。Gemmiza 10 以激活为主:11 个基因(*Ta-5B-HMGA2*、*Ta-3B-HMGB1* 等)持续上调,*Ta-7D-HMGB1* 仍无响应。



A: 热胁迫; B: 磷饥饿胁迫; C: 盐胁迫 (中国春与小麦品种 QM); D: 低温胁迫; E: 干旱胁迫 (PEG6000)。
A: Heat stress; B: No-Pi stress; C: Salt stress (CS and QM); D: Low temperature stress; E: Drought stress (PEG6000).

图 6 小麦TaHMG 基因在不同组织及不同胁迫下的表达

Fig. 6 Expression of TaHMG genes in different tissues and under different stresses in *T. aestivum*

2.6 小麦TaHMG 基因的组织表达模式

为明确TaHMG 基因在小麦中的组织表达特性, 选取Ta-6D-HMGB2、Ta-7D-HMGB2 等 7 个在转录组胁迫条件下特异表达的基因进行 qRT-PCR 分析。从图 7 可知, Ta-2D-HMGB1、Ta-5A-HMGB1、Ta-6D-HMGB2 和 Ta-7D-HMGB1 在茎中优先表达, 表达量显著高于根和叶; Ta-3D-HMGB1 和 Ta-6D-HMGB1 在叶中特异性高表达; Ta-7D-HMGB2

在叶中表达水平也显著高于茎和根。

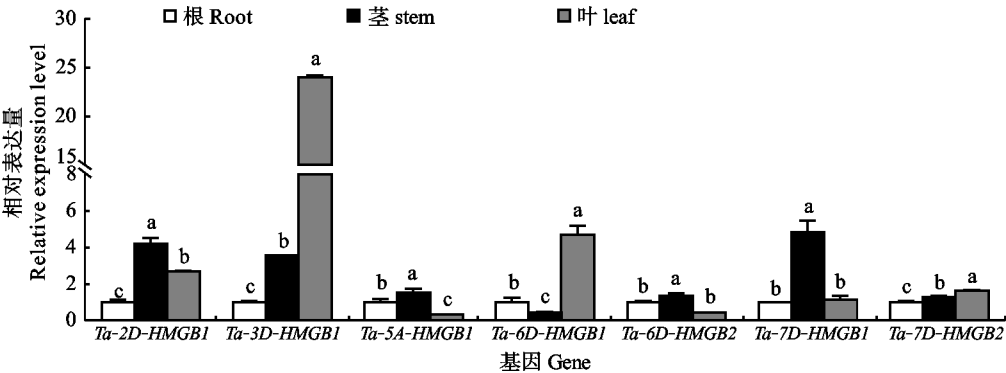
2.7 小麦TaHMG 基因在干旱与磷胁迫下的表达

为明确TaHMG 基因在小麦逆境胁迫中的表达特性, 将选取的 7 个特异表达基因分别在干旱与磷胁迫中进行 qRT-PCR 检测。干旱胁迫下 (图 8), Ta-3D-HMGB1、Ta-5A-HMGB1、Ta-2D-HMGB1、Ta-6D-HMGB1 和 Ta-6D-HMGB2 的表达在胁迫早中期 (3 h/6 h) 迅速升高, 而于 24 h 下

降,呈现典型的早期应答模式。与之相反,*Ta-7D-HMGB2* 的表达呈先抑制后上调的趋势,暗示其可能参与干旱胁迫的后期适应或恢复过程。

在磷胁迫下(图 9),*Ta-7D-HMGB1* 和 *Ta-7D-HMGB2* 在 12 h 为表达高峰,而 *Ta-2D-HMGB1*、

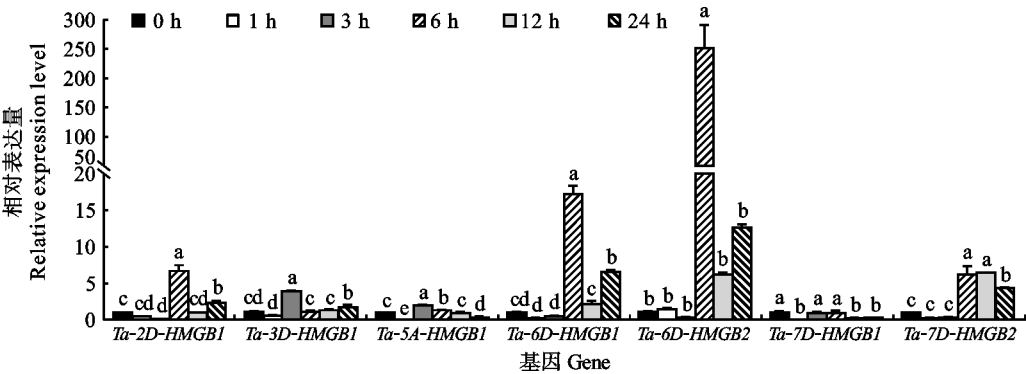
Ta-3D-HMGB1、*Ta-5A-HMGB1*、*Ta-6D-HMGB1* 和 *Ta-6D-HMGB2* 则在 24 h 表达最高。其中, *Ta-2D-HMGB1* 和 *Ta-5A-HMGB1* 在 3 h 显著下调后持续回升,说明不同成员在磷胁迫应答中可能存在功能分工与时序协调。



柱上不同字母表示同一基因在不同组织间的表达差异显著($P < 0.05$)。
Different letters above the bars indicate significant differences in the expression of the same gene among different tissues($P < 0.05$).

图 7 小麦*TaHMG* 基因在不同组织中的表达

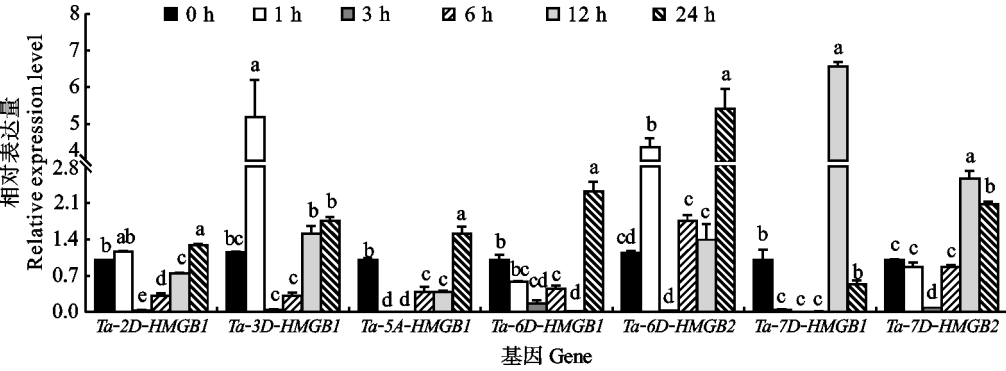
Fig. 7 Expression of the *TaHMG* genes in different tissues of *T. aestivum*



柱上不同字母表示同一基因在不同干旱胁迫时间下表达差异显著($P < 0.05$)。
Different letters above the bars indicate significant differences in the expression of the same gene at different drought stress time points($P < 0.05$).

图 8 小麦*TaHMG* 基因在干旱胁迫下的表达

Fig. 8 Expression patterns of *TaHMG* genes in *T. aestivum* under drought stress



柱上不同字母表示同一基因在不同磷胁迫时间下的表达差异显著($P < 0.05$)。
Different letters above the bars indicate significant differences in the expression of the same gene at different phosphorus stress time points($P < 0.05$).

图 9 小麦*TaHMG* 基因在磷胁迫下的表达

Fig. 9 Expression patterns of *TaHMG* genes in *T. aestivum* under phosphorus stress

3 讨论

高迁移率族蛋白(HMG)作为关键染色质调控因子,在植物逆境响应中发挥重要作用。本研究首次在异源六倍体普通小麦中完成了 HMG 基因家族的全基因组鉴定与表达分析。结果表明, TaHMG 家族在进化上相对保守,在结构和调控元件上呈现分化,并通过差异化的表达模式广泛参与干旱与磷饥饿胁迫响应。

基因家族的扩张常与全基因组加倍事件密切相关。普通小麦经历了两次近代多倍化,共鉴定出 32 个 *TaHMG* 成员,其数量显著多于拟南芥(15 个)等二倍体,与多倍化物种的甘蓝型油菜(45 个)趋势相近。这表明多倍化是 TaHMG 家族扩张的核心动力。亚家族水平上, HMGB 成员(23 个)远超 HMGA(9 个),这与拟南芥^[3]、甘蓝型油菜^[9]等分布相似,暗示 HMGB 亚家族在植物中承担更基础且多样的染色质调控功能^[7,18]。然而,家族的扩张并未伴随功能快速分化。共线性与 Ka/Ks 分析显示,所有满足序列相似度和同义位点数要求的 *TaHMG* 同源基因对均受纯化选择($Ka/Ks < 0.5$),且小麦与水稻、大麦间存在大量同源基因,揭示该家族在进化中高度保守,核心 DNA 结合与染色质重塑功能受到严格维护^[2,19]。

系统进化与结构域分析证实了 TaHMG 分为 HMGA 和 HMGB 两个经典亚家族,并呈现“组内保守、组间分化”的基序特征。HMGB 成员通常拥有更复杂的基因结构(更多外显子),可能与其更精细的转录调控潜力有关^[2,20]。启动子区顺式作用元件分析为功能偏好提供了重要线索: TaHMG 家族显著富集脱落酸响应元件(ABRE, 128 个)、茉莉酸甲酯响应元件(CGTCA-motif 与 TGACG-motif, 各 117 个)以及干旱诱导元件 MBS(存在于 64% 的成员中)。值得注意的是, CGTCA-motif 与 TGACG-motif 在所有家族成员中协同出现且拷贝数完全一致,提示二者可能协同强化茉莉酸信号响应。上述特征表明, TaHMG 家族可能通过 ABA 和 JA 信号通路广泛参与非生物胁迫,尤其是干旱应答^[21-23]。

结合转录组与 qRT-PCR 分析,本研究发现 *TaHMG* 在干旱和磷饥饿下的表达呈现品种特异性、组织特异性及时序分化特征。干旱胁迫下, Giza 168 与 Gemmiza 10 两个品种表现出完全相反的调控策略: Giza 168 以抑制为主, Gemmiza

10 则激活 11 个成员持续高表达,这种极端分化模式在小麦 HMGB 家族中尚无系统报道。关键基因在 PEG6000 模拟干旱下呈早期(3~6 h)瞬时诱导、24 h 回落的趋势,与拟南芥 *AtHMGB2/3* 在渗透胁迫下的响应特征相反^[24],推测这可能源于该小麦基因启动子区存在脱水响应元件(DRE/Core),能够被早期干旱信号快速激活,而 *AtHMGB2/3* 主要受 ABA 负调控,导致二者在渗透胁迫下的转录方向相反。组织表达显示, *Ta-2D-HMGB1* 与 *Ta-5A-HMGB1* 在茎中高表达,可能与维管组织发育或水分运输调控相关,支持已知的小麦茎干旱适应性机制^[25-27]。磷胁迫下,发现 *TaHMG* 在根与地上部呈相反表达趋势(根上调、地上部下调),这种组织特异性反向调控与磷信号通路中 miR399-PHO2 的器官协同模式相似^[28],暗示 *TaHMG* 可能参与磷稳态的器官间协调。

本研究利用 qRT-PCR 揭示了磷胁迫下小麦 HMG 家族清晰的时序分化特征: *Ta-7D-HMGB1/2* 于 12 h 达峰值, *Ta-2D-HMGB1* 等 5 个基因于 24 h 达峰值,该现象在其他植物 HMG 中未见报道。灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*) *BcHMG* 在 NaCl 和 KCl 胁迫下显著下调^[10],与本研究部分成员在磷胁迫早期的抑制类似,可能反映 HMG 蛋白在逆境初期染色质紧缩、转录活性降低的保守机制;而本研究中后期(24 h)表达的回升,则与灰葡萄孢部分成员侵染后期的上调^[10]相似,共同体现了该家族时序调控的复杂性。

此外, *Ta-5A-HMGB1* 与 *Ta-7D-HMGB1* 基因在干旱胁迫下呈现出一类特殊的表达模式:胁迫初期短时间内表达水平下调至较低水平,随后再度回升至较高水平。为探究这一异常表达现象的原因,本研究对试验材料、处理环境及操作流程进行了系统核查,未发现明显的外界干扰因素。独立生物学重复试验结果表明,该表达趋势具有较好的可重复性,排除了试验误差所致可能性。后续将通过加密取样时间点、结合基因功能验证等研究进一步明确其产生原因。

尽管本研究系统鉴定了小麦 *TaHMG* 基因在干旱与磷饥饿下的品种特异性、组织特异性及时序分化表达模式,为抗逆育种提供了理论基础与候选基因,但仍存在以下局限:干旱下品种间表达分化的遗传基础尚不明确,需扩大品种范围并联合启动子 SNP 与转基因验证;磷胁迫下早期抑

制-后期激活的非单调机制有待 ATAC-seq 解析;目前仅验证了 7 个基因,全家族表达谱有待完善。

综上,*TaHMG* 基因通过品种特异性、组织特异性和时序差异化的表达调控,广泛参与小麦干旱与磷饥饿胁迫应答。本研究为深入理解该家族基因在非生物逆境中的功能分化提供了重要靶点,并为后续抗逆育种奠定了基础。

参考文献:

- [1] Bianchi M E, Beltrame M, Paonessa G. Specific recognition of cruciform DNA by nuclear protein HMG1 [J]. *Science*, 1989, 243(4894 Pt1):1056.
- [2] Grasser K D, Launholt D, Grasser M. High mobility group proteins of the plant HMGB family; Dynamic chromatin modulators [J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Genes Structure and Expression*, 2007, 1769(5-6):346.
- [3] Antosch M, Mortensen S A, Grasser K D. Plant proteins containing high mobility group box DNA-binding domains modulate different nuclear processes [J]. *Plant Physiology*, 2012, 159(3):875.
- [4] Gupta R, Webster C I, Walker A R, et al. Chromosomal location and expression of the single-copy gene encoding high-mobility-group protein HMG-I/Y in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Molecular Biology*, 1997, 34(3):529.
- [5] 王春瑶, 雷晓锦, 刘中原. 逆境胁迫下山新杨 *PdbHMGs* 基因表达模式分析[J]. 植物研究, 2023, 43(6):932.
Wang C Y, Lei X J, Liu Z Y. Expression pattern analysis of *PdbHMGs* genes in *Populus davidiana* × *P. bolleana* under abiotic stress [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2023, 43(6):932.
- [6] Xu K, Chen S J, Li T F, et al. Overexpression of OsH-MGB707, a high mobility group protein, enhances rice drought tolerance by promoting stress-related gene expression [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12:711271.
- [7] Chalhou B, Denoeud F, Liu S Y, et al. Early allopolyploid evolution in the post-neolithic *Brassica napus* oilseed genome [J]. *Science*, 345(6199):950.
- [8] 邹婷婷, 杨莉, 曲茜彤, 等. 菠菜高迁移率家族基因家族鉴定及表达分析[J]. 生物技术通报, 2024, 40(12):84.
Zou T T, Yang L, Qu X T, et al. Identification and expression analysis of high mobility gene families in spinach [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(12):84.
- [9] 李春金, 郭媛媛, 杨启航, 等. 甘蓝型油菜 HMG 基因家族的生物信息学分析[J]. 中国油料作物学报, 2018, 40(3):318.
Li C J, Guo Y Y, Yang Q H, et al. Bioinformatic analysis of HMG gene family in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2018, 40(3):318.
- [10] 张天雨, 李白, 藏金萍, 等. 灰葡萄孢 HMG 家族基因的全基因组鉴定与表达规律分析[J]. 中国农业科学, 2025, 58(4):704.
Zhang T Y, Li B, Zang J P, et al. Genome-wide identification and expression analysis of HMG family genes in *Botrytis cinerea* [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2025, 58(4):704.
- [11] 时明坤. *TaHMGB* 家族的生物信息学分析与 *TaHMGB11-7A* 功能的初步鉴定[D]. 郑州:河南农业大学, 2021.
Shi M K. Bioinformatics analysis of *TaHMGB* gene family and preliminary functional identification of *TaHMGB11-7A* [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2021.
- [12] Chen C J, Wu Y, Li J W, et al. TBtools-II: A “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining [J]. *Molecular Plant*, 2023, 16(11):1733.
- [13] Mistry J, Chuguransky S, Williams L, et al. Pfam: The protein families database in 2021 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(D1):D412.
- [14] Letunic I, Khedkar S, Bork P. SMART: Recent updates, new developments and status in 2020 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(D1):D458.
- [15] Gasteiger E. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server[M]. Totowa, NJ: Humana Press, 2005:571-607.
- [16] Horton P, Park K J, Obayashi T, et al. WoLF PSORT: Protein localization predictor [J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35:W585.
- [17] 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.
- [18] Štros M, Launholt D, Grasser K D. The HMG-box: A versatile protein domain occurring in a wide variety of DNA-binding proteins [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2007, 64(19):2590.
- [19] Bustin M. Regulation of DNA-dependent activities by the functional motifs of the high-mobility-group chromosomal proteins [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1999, 19(8):5237.
- [20] Wu Q, Zhang W S, Pwee K H, et al. Cloning and characterization of rice *HMGB1* gene [J]. *Gene*, 2003, 312:103.
- [21] Abe H, Urao T, Ito T, et al. *Arabidopsis* AtMYC₂ (bHLH) and AtMYB2 (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling [J]. *The Plant Cell*, 2003, 15(1):63.
- [22] Yamaguchi Shinozaki K, Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57:781.
- [23] Kazan K. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance [J]. *Trends in Plant Science*, 2015, 20(4):219.
- [24] Kwak K J, Kim J Y, Kim Y O, et al. Characterization of transgenic *Arabidopsis* plants overexpressing high mobility group B proteins under high salinity, drought or cold stress [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2007, 48(2):221.
- [25] 申海兵, 杨德龙, 景蕊莲, 等. 小麦穗颈维管束遗传特性及其与产量性状的关系[J]. 麦类作物学报, 2007, 27(3):465.
Shen H B, Yang D L, Jing R L, et al. Genetic characters of vascular bundle in the first internode and its relationship with yield components of wheat [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2007, 27(3):465.
- [26] 肖婷婷, 吕金印. 水分亏缺对小麦穗部维管束系统发育的影响[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(5):977.
Xiao T T, Lü J Y. Effect of water deficit on the development of vascular bundle system of wheat spike [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(5):977.
- [27] Verbeke S, Padilladiaz C M, Lievens S, et al. Wheat maintains stem water potential during drought stress despite declining osmotic potential [J]. *Physiologia Plantarum*, 2025, 177(5):e70513.
- [28] Bari R, Pant B D, Stitt M, et al. PHO2, microRNA399, and PHR1 define a phosphate-signaling pathway in plants [J]. *Plant Physiology*, 2006, 141(3):988.