2026, 66(10): 5136-5148
CSTR: 32112.14.j.AMS.20260259
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20260259

微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

Research Article 研究报告

组蛋白变体 H2A.Z 在禾谷镰孢生长发育及致病机制中的功能解析

尚飞飞[#]，柳健虎[#]，曹宏哲，藏金萍，张康，邢继红[*]，董金皋[*]

河北农业大学，河北省植物生理与分子病理学重点实验室，河北 保定

尚飞飞, 柳健虎, 曹宏哲, 藏金萍, 张康, 邢继红, 董金皋. 组蛋白变体 H2A.Z 在禾谷镰孢生长发育及致病机制中的功能解析[J]. 微生物学报, 2026, 66(10): 5136-5148.

SHANG Feifei, LIU Jianhu, CAO Hongzhe, ZANG Jinping, ZHANG Kang, XING Jihong, DONG Jingao. Roles of histone variant H2A.Z in the growth, development, and pathogenic mechanism of *Fusarium graminearum*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(10): 5136-5148.

摘　要：【目的】组蛋白变体 H2A.Z 作为真核生物染色质的关键组分，在基因表达调控中发挥重要作用。本研究旨在探究 H2A.Z 对禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)生物学特性及致病性的调控作用，解析其在病原真菌致病过程中的表观遗传调控机制。【方法】利用生物信息学手段对禾谷镰孢基因组进行挖掘，通过多序列比对和系统发育分析鉴定 H2A.Z 同源基因；采用同源重组策略结合聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)介导的原生质体转化体系构建基因缺失突变体；通过形态学观察、致病力测定及非生物胁迫响应实验系统评估野生型与突变体在形态发育、致病性及环境适应性方面的差异。【结果】本研究明确了禾谷镰孢 H2A.Z 由 *FgHTZ1* 基因编码。表型分析显示，*FgHTZ1* 缺失导致菌落生长显著迟缓、菌丝极性生长与分生孢子形态建成异常，且致病性大幅减弱。此外，突变体对渗透胁迫(NaCl、山梨醇)、氧化应激(H_2O_2)及细胞壁损伤(刚果红)的敏感性发生显著改变，表现出对细胞壁干扰剂的耐受性增强但对渗透/氧化胁迫超敏的复杂表型。【结论】禾谷镰孢组蛋白变体 H2A.Z 的编码基因为 *FgHTZ1*，该基因作为正调控因子，不仅调控禾谷镰孢的营养生长、形态发育和致病力，还参与介导菌体对渗透胁迫与氧化胁迫的适应性应答，并对维持细胞壁完整性具有关键作用。本研究为深入理解组蛋白变体在植物病原真菌致病机制中的分子功能提供了重要的理论基础。

关键词：禾谷镰孢；H2A.Z；*FgHTZ1*；基因敲除；致病力

资助项目：国家自然科学基金(32072369)；中央引导地方科技发展资金(246Z6506G)
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32072369) and the Central Guidance for Local Technology Development Funding (246Z6506G).
[#]These authors contributed equally to this work.
*Corresponding authors. E-mail: XING Jihong, xingjihong2000@126.com; DONG Jingao, dongjingao@126.com
Received: 2026-03-30; Accepted: 2026-04-25; Published online: 2026-06-03

Roles of histone variant H2A.Z in the growth, development, and pathogenic mechanism of *Fusarium graminearum*

SHANG Feifei[#], LIU Jianhu[#], CAO Hongzhe, ZANG Jinping, ZHANG Kang, XING Jihong[*], DONG Jingao[*]

Key Laboratory of Hebei Province for Plant Physiology and Molecular Pathology, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei, China

Abstract: [Objective] As a key component of eukaryotic chromatin, histone variant H2A.Z plays an important role in gene expression regulation. This study explored the regulatory effects of H2A.Z on the biological characteristics and pathogenicity of *Fusarium graminearum*, aiming to decipher its epigenetic regulation mechanism in the pathogenicity of pathogenic fungi. **[Methods]** The genome of *F. graminearum* was excavated by bioinformatics methods, and the H2A.Z homologous genes were identified by multiple sequence alignment and phylogenetic analysis. The gene deletion mutants were constructed by homologous recombination combined with PEG-mediated protoplast transformation. The phenotypic differences in morphological development, pathogenicity, and environmental adaptability between the wild type and the mutants were systematically evaluated by morphological observation, pathogenicity determination, and abiotic stress response experiments. **[Results]** H2A. Z was encoded by *FgHTZ1*. Phenotypic analysis showed that the deletion of *FgHTZ1* resulted in significant retardation of colony growth, abnormal mycelial polar growth and conidial morphogenesis, and significant attenuation in pathogenicity. In addition, the mutants showed significantly altered sensitivity to osmotic stress (NaCl and sorbitol), oxidative stress (H_2O_2), and cell wall damage (Congo red), exhibiting a complex phenotype of enhanced tolerance to cell wall disruptors but hypersensitivity to osmotic/oxidative stress. **[Conclusion]** *FgHTZ1* is the coding gene of H2A.Z in *F. graminearum*. As a positive regulator, this gene not only regulates the vegetative growth, morphological development, and pathogenicity of *F. graminearum* but also participates in mediating osmotic stress and oxidative stress responses, playing a key role in maintaining cell wall integrity. This study provides an important theoretical basis for further understanding the molecular functions of histone variants in the pathogenic mechanisms of plant pathogenic fungi.

Keywords: *Fusarium graminearum*; H2A.Z; *FgHTZ1*; gene knockout; pathogenicity

禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)是引发小麦赤霉病和玉米茎腐病的主要病原菌，对全球粮食安全构成严重威胁。该真菌不仅导致农作物大幅减产，其产生的脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)和玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEA)等次级代谢产物，更因具有强细胞毒性而严重危害人畜健康[1-2]。随着全基因组测序的完成，禾谷镰孢已成为解析植物-病原真菌互作机制的模式生物，其致病相关基因的功能鉴定与调控网络解析取得了显著进展[3]。深入挖掘禾谷镰孢关键基因的生物学功能，不仅有助于揭示其致病分子机理，更为研发新型绿

色防控策略提供理论支撑。

在真核生物中，染色质的基本结构单位核小体由 146 bp DNA 缠绕组蛋白八聚体(含 H2A、H2B、H3、H4 各 2 分子)构成。除保守的核心组蛋白外，组蛋白变体在 DNA 复制、基因表达调控及染色体动力学行为中扮演关键角色[4-6]。H2A.Z 是进化上高度保守的组蛋白变体，约占细胞总 H2A 蛋白的 15%。与典型 H2A 相比，其 C 端序列的显著差异赋予了其独特的结构与功能特性[7-8]。研究表明，H2A.Z 在哺乳动物中是胚胎干细胞分化与基因激活的关键调控因子，其缺失可导致胚胎发育停滞[9-10]；在酿酒酵母中，H2A.Z 则是减数分裂期间 DNA 重组的必需因子[11-12]。值得注意的是，尽管 H2A.Z 缺失在酵母中不致死，但在高等生物中却表现出致死效应，暗示该蛋白在不同进化层级的生物中存在功能分化[13-14]。从空间分布上看，H2A.Z 偏好性地富集于核小体边缘，尤其在转录起始位点(transcription start site, TSS)附近的核小体缺失区及启动子区域高度聚集[15-16]。

近年来，H2A.Z 在植物病原真菌中的功能逐渐受到关注。研究表明，H2A.Z 在部分植物病原真菌中参与调控菌丝生长、分生孢子发育及致病性等关键生物学过程。例如，在水稻恶苗病菌(*Fusarium fujikuroi*)中，H2A.Z 的缺失显著影响了菌丝的正常生长和分生孢子的形成，进而降低了病原菌的致病力[17]。然而，尽管 H2A.Z 在其他植物病原真菌中的功能已有初步探索，关于 H2A.Z 在禾谷镰孢中的具体调控机制，尤其是其在生长发育、致病性及环境适应性中的分子调控网络目前仍知之甚少。这一研究空白不仅限制了我们对禾谷镰孢致病机理的深入理解，也阻碍了基于表观遗传调控的新型防控策略的开发。

尽管 H2A.Z 在真核生物中的基础功能已被广泛报道，但其在禾谷镰孢生长发育及致病过程中的具体生物学功能与分子调控机制尚不明确。因此本研究拟通过禾谷镰孢基因组信息精准鉴定 H2A.Z 编码基因，并通过同源重组技术构建基因敲除突变体。在此基础上，系统评估该基因缺失对菌丝形态建成、产孢能力、次级代谢产物合成及致病性等关键表型的影响。本研究旨在揭示 H2A.Z 在禾谷镰孢中的功能角色，为解析病原真菌表观遗传调控网络提供直接证据。鉴于 H2A.Z 兼具高度保守性与物种特异性，本研究不仅有助于深化对禾谷镰孢致病机理的理解，也为探索植物-病原互作的进化机制提供重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用的禾谷镰孢菌 PH-1 菌株、同源重组载体 pBS-Bar、‘郑单 958’玉米品种及玉米自交系‘B73’均由河北农业大学河北省植物生理与分子病理学重点实验室提供并保存。

1.2 禾谷镰孢 *FgHTZ1* 基因的生物信息学鉴定与系统进化分析

从 Ensembl 真菌数据库(http://fungi.ensembl.org/index.html)下载 8 种代表性真菌的 H2A.Z 和 H2A 蛋白序列，包括禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)、尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*)、盖姆斯木霉(*Trichoderma gamsii*)、构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)、坦纳曲霉(*Aspergillus tanneri*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)。在进化分析方面，运用 MEGA 7 软件中的邻近法构建系统发育树。通过 Pfam (http://pfam.xfam.org/)和 SMART (http://smart.embl-heidelberg.de/) 在线工具对各物种 H2A.Z 蛋白的功能域进行预测分析，并利用 IBS 软件可视化功能域结构。

1.3 禾谷镰孢 *FgHTZ1* 基因敲除突变体的构建

基于 *FgHTZ1* 基因与 pBS-Bar 载体多克隆位点的匹配性，设计包含 *Cla* I、*Eco*R I、*Bam*H I

和 *Xba* I 4 种限制性内切酶位点的特异性引物(表 1)，用于扩增 *FgHTZ1* 基因的 2 个同源重组片段 I 和 II。将 PCR 产物与 pBS-Bar 载体进行连接，构建 *FgHTZ1* 基因敲除载体 pBS+II+I。采用 PEG 介导的原生质体转化方法，将该重组载体导入禾谷镰孢野生型菌株 PH-1 中。经过抗性培养基筛选和单孢分离纯化后获得转化子。为验证转化效果，根据 *Bar* 抗性基因和 *FgHTZ1* 基因同源臂序列设计特异性引物进行 PCR 检测。同时，以 *FgActin* 基因为内参，通过 RT-qPCR 技术定量分析转化子中 *FgHTZ1* 基因的表达水平变化。

1.4 突变体的菌落形态与生长速率测定

系统比较禾谷镰孢野生型 PH-1 及其突变体的菌落形态与生长特性。在固体培养条件下，将菌株接种于 PDA 平板上，置于 25 ℃黑暗培养。每日定时测量并记录菌落直径，以绘制生长曲线并分析生长速率差异；同时仔细观察并记录菌落的形态特征(如边缘形状、气生菌丝密度)及色素产生情况。实验过程中使用直径 5 mm 的无菌打孔器从菌落边缘切取菌饼，转接至新鲜 PDA 平板以进行继代培养。在液体培养条件下，将野生型和突变体的分生孢子悬浮液(浓度需保持一致)接种于 PDB 液体培养基中，25 ℃、200 r/min 培养 72 h。培养结束后，收集菌丝体并置于 37 ℃烘箱中烘干至恒重，测定生物量(干重)。所有实验均设置 3 次生物学重复，以确保数据的可靠性与统计学意义。

1.5 突变体的菌丝形态观察

将野生型 PH-1 及突变体菌丝接种于 PDA 平板上，每皿斜插一张无菌盖玻片以利于菌丝附着，25 ℃暗培养。待菌丝覆盖盖玻片后，用灭菌镊子取出盖玻片置于载玻片上，采用植物细胞壁特异性荧光染料钙荧光白(calcofluor white, CFW)于 30 ℃避光染色 30 min。随后在暗室条件下利用荧光显微镜观察菌丝形态，重点统计菌丝分隔间距、菌丝宽度等参数。实验设 3 次生物学重复。

1.6 突变体的分生孢子形态观察与产孢量测定

取预培养 5 d (25 ℃)的野生型及突变体菌落，用 5 mm 打孔器从边缘切取 3 个菌块，转接至装有 100 mL 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)液体培养基的三角瓶中，200 r/min 培养 5 d 以诱导产孢。培养结束后，经 4 层无菌纱布过滤去除菌丝碎片，滤液用于后续分析。利用光学显微镜

表1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this study

Gene names	Primer names	Primer sequences (5′→3′)
FgHTZ1 homology arm I	I-F	ATCGATGCGAAGACGGCGAGGATGT
	I-R	GAATTCACGGTGGCGCCGCGTC
FgHTZ1 homology arm II	II-F	GGATCCTGTCGATGTAGTCGCGTTAA
	II-R	TCTAGAGCCGCCACATTTAGCCAC
FgHTZ1, *BAR*	B-F	ATCTCGGTGACGGGCAATCGATGCGAAGACGGCG
	B-R	ACGGTGGCGCCGCGTCATGAGCCCAGAACGACGC
BAR	BAR-F	ATGAGCCCAGAACGACGC
	BAR-R	TCAGATCTCGGTGACGGGCA
FgHTZ1	RT-F	AGCAGTAGAGCGCGGTTGATGTG
	RT-R	AAGTTCTGGAGTTGGCAGGCGTAAG
FgActin	FgActin-F	AACATTGTCATGTCTGGTGGTACC
	FgActin-R	CACTTGCGGTGAACGATTGA

观察分生孢子的形态特征，并采用血球计数板进行显微计数以测定产孢量。为确保数据准确性，每个处理设置 3 次生物学重复。

1.7 突变体的致病力测定

选用玉米自交系‘B73’作为寄主材料，采用茎部注射法进行致病力评估。于玉米 10 叶期，在第二茎节间注射 100 μL 浓度为 1×10^6 个/mL 的分生孢子悬浮液，同时设置羧甲基纤维素钠(CMC-Na)液体培养基和无菌水作为阴性对照。注射后用无菌湿纱布包扎伤口以维持湿度，每处理设置 3 次重复。分别于接种后 3、7、14 d 进行表型调查，通过纵向剖茎观察病斑扩展情况并测量病斑长度以此量化评价突变体的致病能力。

1.8 突变体对非生物胁迫的敏感性测定

采用生长速率法评估突变体对非生物胁迫的耐受性。将野生型 PH-1 及突变体菌饼(直径 5 mm)接种于含不同胁迫剂的 PDA 平板上，胁迫条件包括：NaCl (0.8 mol/L)、山梨醇(1.0 mol/L)、H_2O_2 (10.0 mmol/L)和刚果红(2 mg/mL)。25 ℃黑暗培养 72 h 后，采用十字交叉法测量菌落直径，并详细记录菌落形态及色素分泌情况。每组设 3 次生物学重复。以对照组菌落直径为基准，按公式(1)计算抑制率。

$$\text{抑制率}=[(\text{对照菌落直径}-\text{处理菌落直径})/\text{对照菌落直径}]\times100\% \quad (1)$$

1.9 数据统计

采用 Graphpad Prism 10.1.2 软件进行数据统计分析，具体运用单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)来评估不同处理组之间的差异显著性。在确定存在显著差异后，进一步采用 Tukey 法进行多重比较，以精确识别各组间的具体差异。为确保实验结果的可靠性和重复性，每个试验均设置 3 次独立的生物学重复。

2 结果与分析

2.1 禾谷镰孢 *FgHTZ1* 基因的生物信息学鉴定与进化分析

本研究利用生物信息学手段，对 8 种真菌的 H2A.Z 及 H2A 蛋白序列进行了系统性进化分析。在基因鉴定方面，通过 BLAST 搜索禾谷镰孢 PH-1 基因组数据库，确定 *FGSG_01057* 为编码 H2A.Z 蛋白的基因，命名为 *FgHTZ1*，且蛋白同源性分析表明其与稻瘟病菌、粗糙脉孢菌中的 H2A.Z 同源蛋白一致性超过 75%。经全基因组检索、保守结构域注释与系统发育分析验证，禾谷镰孢基因组中仅 *FgHTZ1* 一个基因编码组蛋白变体 H2A.Z，不存在其他旁系同源基因。系统发育树构建结果显示，编码 H2A.Z 的 *HTZ* 基因与编码 H2A 的 *HTA* 基因分别形成了独立的单系群(图 1A)，表明二者在进化过程中发生了明显分化。其中，禾谷镰孢 *FgHTZ1* 与尖孢镰孢 *FoHTZ1* 的聚类关系最近，进化距离最短。进一步通过保守结构域预测发现，这些基因均包含典型的 H2A 核心结构域(图 1B)。上述结果从分子进化和结构生物学层面确证了组蛋白变体 H2A.Z 在真菌界具有高度的保守性特征。

2.2 禾谷镰孢 *FgHTZ1* 基因敲除突变体的构建与鉴定

本研究利用同源重组技术构建了 *FgHTZ1* 基因敲除载体 pBS+II+I (图 2A)，并通过 PEG 介导的原生质体转化法筛选获得 3 个具有草铵膦(bialaphos)抗性的转化子，分别命名为 Δ*htz1-1*、Δ*htz1-2* 和 Δ*htz1-3*。PCR 验证结果显示，使用外侧引物组合 I-F/B-R 和 B-F/II-R 在突变体中均扩增出约 1 500 bp 的特异性条带，而内侧引物 B-F/B-R 仅扩增出约 500 bp 的短片段(图 2B−2D)，这一结果确证了外源片段已通过同源重组准确插入目标位点。在抗性培养基上，野生型 PH-1 的生长受到显著抑制(菌落直径 3.3 cm)，而突变体菌株则表现出良好的抗性且生长旺盛(菌落直

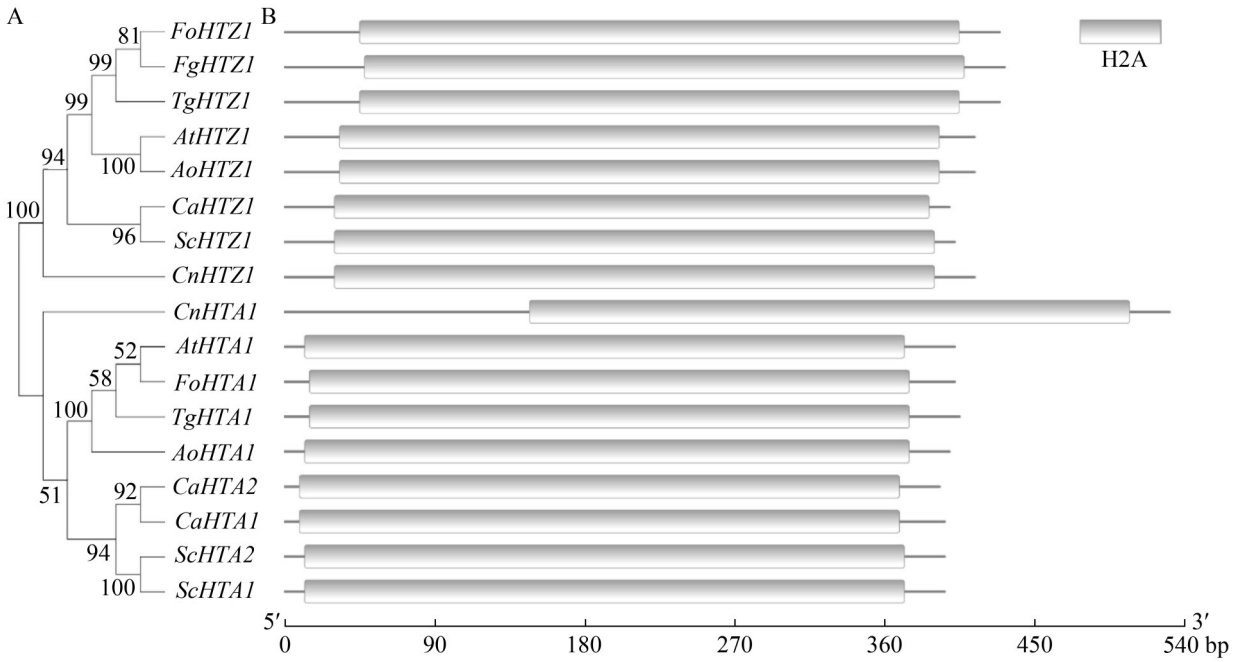


图1 *HTZs*和*HTAs*的系统发育分析与保守结构域分析

Figure 1 Phylogenetic and conservative domain analysis of *HTZs* and *HTAs*. A: Phylogenetic tree of *HTZs* and *HTAs* of multiple species (Fo: *Fusarium oxysporum*; Fg: *Fusarium graminearum*; Tg: *Trichoderma gamsii*; At: *Aspergillus tanneri*; Ao: *Aspergillus ochraceoroseus*; Ca: *Candida albicans*; Sc: *Saccharomyces cerevisiae*; Cn: *Cryptococcus neoformans*); B: Conserved domains of *HTZs* and *HTAs* of multiple species.

径达 8.0−8.5 cm) (图 2E−2F)。RT-qPCR 检测显示，突变体中 *FgHTZ1* 基因的转录水平较野生型显著下调(图 2G)。综合分子鉴定、抗性表型及转录分析结果，确认 *FgHTZ1* 基因敲除突变体构建成功。

2.3 禾谷镰孢 *FgHTZ1* 基因突变对菌落生长及生物量积累的影响

菌落形态观察显示，*FgHTZ1* 突变体与野生型 PH-1 在菌落形态上无显著差异，但色素合成能力明显减弱(图 3A)，表明 *FgHTZ1* 可能参与调控禾谷镰孢的色素代谢途径。生长速率分析表明，Δ*htz1-1* 和 Δ*htz1-2* 突变株的生长速率与野生型基本一致，而 Δ*htz1-3* 突变株的菌落扩展受到显著抑制。接种后第 1 天起，Δ*htz1-3* 突变株的菌落直径即显著小于野生型 PH-1，且该差异在第 2 天和第 3 天持续存在(图 3B)。值得注意的是，尽管 Δ*htz1-3* 的生长速率减慢，其菌丝干重(1.9 g)却显著高于野生型(1.4 g)；而其余 2 株突变体的生物量(1.2−1.4 g)与野生型无显著差别(图 3C)。上述结果揭示了 *FgHTZ1* 基因缺失对病原真菌营养生长和生物量形成的复杂调控效应，暗示该基因可能在不同遗传背景或突变株中存在功能分化。

2.4 禾谷镰孢 *FgHTZ1* 基因突变对菌丝发育的影响

利用光学显微镜与荧光显微镜对野生型及突变体的菌丝形态进行对比观察，结果显示二者在菌丝外观上未呈现显著差异(图 4A)。然而，形态学定量分析结果显示，突变体菌丝的隔膜间距及菌丝直径均较野生型明显减小(图 4B、4C)。上述微观结构的改变表明 *FgHTZ1* 基因的缺失对菌丝的极性生长及细胞形态建成具有关

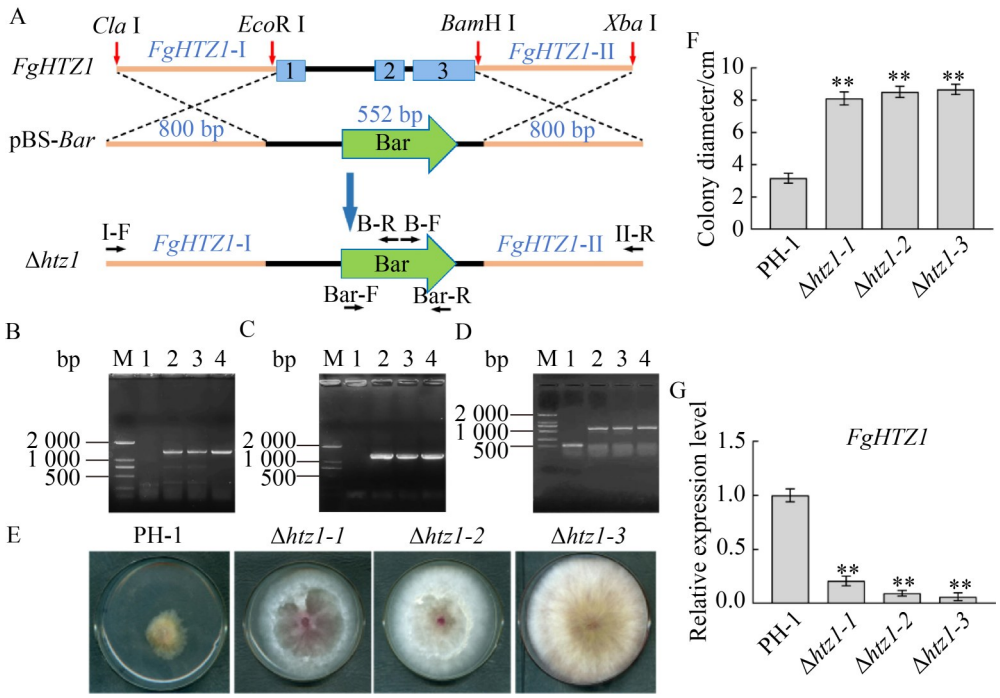


图2　禾谷镰孢*FgHTZ1*基因敲除突变体的构建与鉴定

Figure 2　Construction and identification of the *FgHTZ1* knockout mutants in *Fusarium graminearum*. A: Structure diagram of *FgHTZ1* knockout mutants (1 – 3: Three exons of *FgHTZ1* gene; *FgHTZ1*-I: *FgHTZ1* homology arm I; *FgHTZ1*-II: *FgHTZ1* homology arm II; *Bar*: Bialaphos resistance gene); B, C, D: Identification of *FgHTZ1* mutants by PCR amplification using primer I-F/B-R, B-F/II-R, and Bar-F/Bar-R (Lane M: DNA marker; Lane 1: Wild type PH-1; Lanes 2, 3, 4: *FgHTZ1* mutant Δ*htz1-1*, Δ*htz1-2*, and Δ*htz1-3*); E: The growth status of *FgHTZ1* mutants on PDA medium containing 200 μg/mL bialaphos; F: Colony diameters of Figure 2E; G: Relative expression levels of *FgHTZ1* gene in PH-1 and the *FgHTZ1* mutants. Error bars indicate mean±SD. Asterisks indicate significant difference compared with wild type PH-1 by Student's *t*-test (**: $P<0.01$). The same below.

键调控作用。

2.5　禾谷镰孢 *FgHTZ1* 基因突变对分生孢子发育的影响

显微形态学观察显示，*FgHTZ1* 突变体的分生孢子仍保持典型的镰刀状形态，且具有 3–5 个隔膜，在整体形态特征上与野生型无显著差异(图 5A)。然而，形态学定量分析揭示了细微但显著的表型变化：突变体分生孢子的长度(0.17–0.19 mm)较野生型(0.28 mm)显著缩短，而孢子宽度则未受明显影响(图 5B、5C)。更为关键的是，突变体的产孢能力表现出显著缺陷，其分生孢子产量[(1.0–2.5)×10^5 个/mL]显著低于野生型(3.0×10^5 个/mL)(图 5D)。上述结果表明，*FgHTZ1* 基因虽不决定孢子的基本形态建成，但对孢子的尺寸调控及产量形成具有不可或缺的关键作用。

2.6　禾谷镰孢 *FgHTZ1* 基因突变对致病力的影响

致病力测定结果显示，野生型菌株接种玉米后，在接种 3 d 即可观察到明显的变色病斑，且随着病程推进病斑逐渐扩展并颜色加深。相比之下，*FgHTZ1* 突变体菌株接种后表现出显著

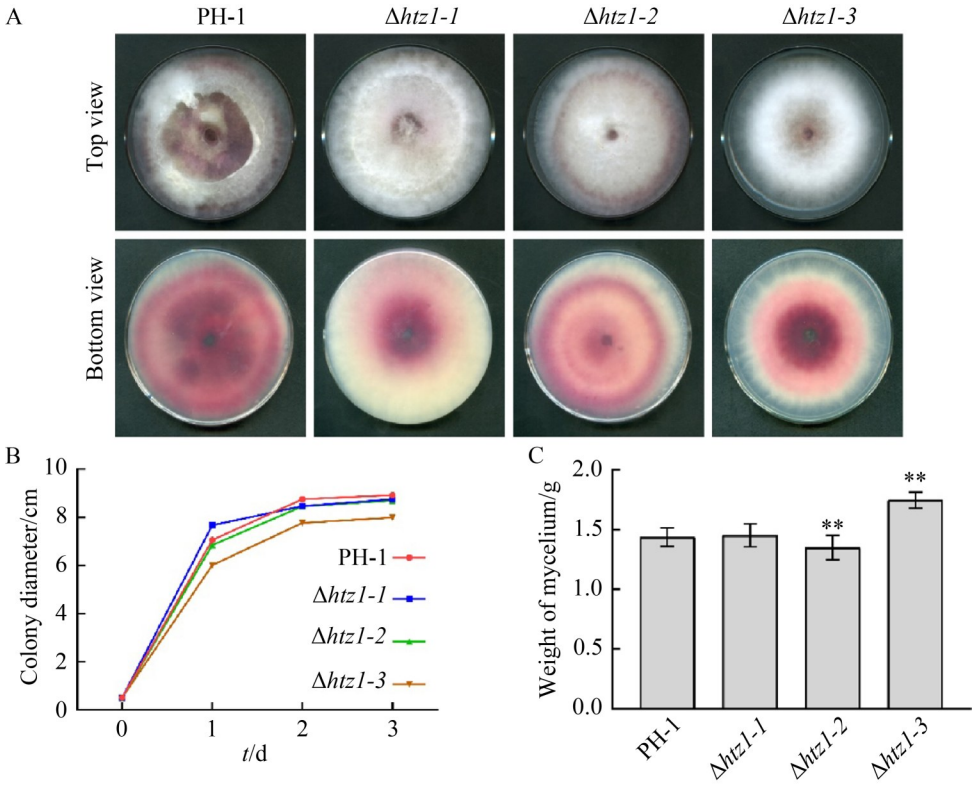


图3 禾谷镰孢*FgHTZ1*基因突变对菌落生长的影响

Figure 3 The influence of *FgHTZ1* mutation on the growth of *Fusarium graminearum*. A: Colony morphology of PH-1 and *FgHTZ1* mutants; B: Growth rate of PH-1 and *FgHTZ1* mutants; C: Mycelium weight of PH-1 and *FgHTZ1* mutants (**: $P<0.01$).

减弱的致病表型，病斑扩展受限且症状较轻(图6A)。为进一步量化致病力差异，本研究对病斑面积进行了统计分析。结果表明，在接种后3、7、14 d，突变体的病斑扩展面积均显著低于野生型(图6B)。上述表型与定量数据共同证实，*FgHTZ1*基因的缺失显著削弱了禾谷镰孢的致病能力。

2.7 禾谷镰孢 *FgHTZ1* 基因突变对非生物胁迫响应的影响

为阐明*FgHTZ1*基因在胁迫应答中的生物学功能，本研究系统分析了突变体对渗透胁迫(NaCl、山梨醇)、氧化胁迫(H_2O_2)及细胞壁干扰剂(刚果红)的响应特性。在渗透胁迫下，NaCl处理对野生型和突变体均表现出一定的生长促进效应，但突变体的促进幅度显著弱于野生型(图7A、7B)；而在山梨醇胁迫下，野生型生长仅受到轻微抑制，Δ*htz1-1*和Δ*htz1-2*突变株的生长受抑制程度则显著加重(图7A、7C)。在氧化胁迫下，Δ*htz1*-2和Δ*htz1*-3对H_2O_2的敏感性显著增强(图7A、7D)。尤为值得注意的是，在细胞壁干扰剂刚果红处理组中，野生型表现出明显的生长抑制，而3个突变株却表现出显著增强的耐受性(图7A、7E)。上述结果证实，*FgHTZ1*不仅参与调控渗透胁迫和氧化胁迫响应途径，还在维持细胞壁结构完整性方面发挥着关键作用。

3 讨论

在真核生物中，DNA复制完成后核心组蛋

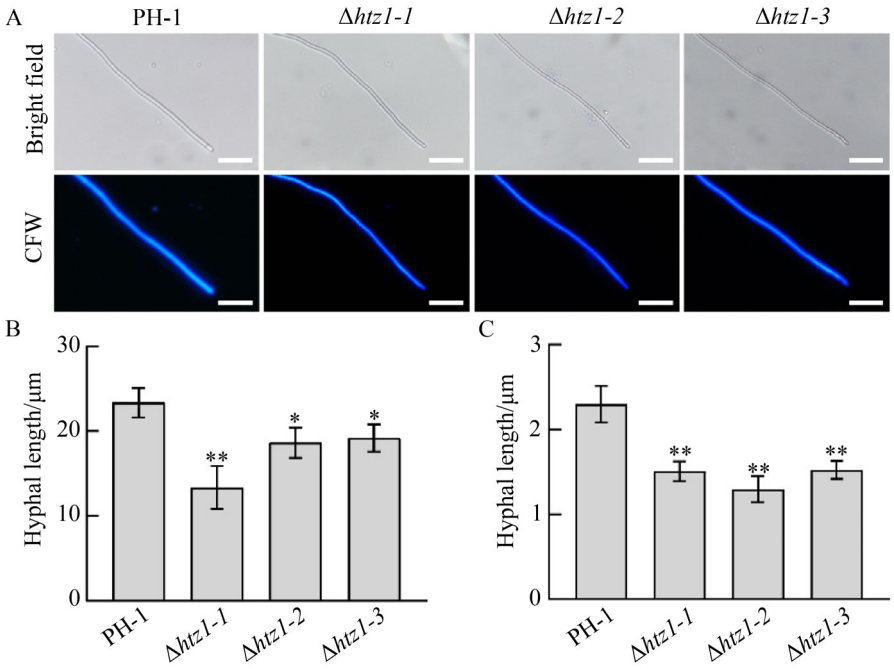


图4　禾谷镰孢*FgHTZ1*基因突变对菌丝发育的影响

Figure 4　The influence of *FgHTZ1* mutation on hyphal development of *Fusarium graminearum*. A: Hyphal morphology of PH-1 and *FgHTZ1* mutants [CFW: Calcofluor white (Bar=20 μm)]; B: Hyphal length of PH-1 and *FgHTZ1* mutants (*: $P<0.05$; **: $P<0.01$); C: Hyphal width of PH-1 and *FgHTZ1* mutants. Error bars indicate mean±SD. Asterisks indicate significant difference compared with wild type PH-1 by Student's *t*-test (**: $P<0.01$).

白 H2A、H2B、H3 和 H4 被精确地组装到染色质中，这些组蛋白在转录调控、DNA 复制以及染色体分离等核心生命过程中发挥着不可替代的作用[18]。值得注意的是，H2A.Z 作为 H2A 的一个重要变体，在进化过程中表现出了高度的保守性，这种保守性不仅体现在其氨基酸序列上，更重要的是体现在其功能上。凭借其独特的理化性质，H2A.Z 能够显著改变核小体的稳定性，进而重塑染色质的高级结构，实现对基因表达的精细调控。在模式植物拟南芥中 H2A.Z 已被证实参与调控开花时间、免疫应答以及温度信号传导等多个关键生理过程[19-21]；而在酿酒酵母中 H2A.Z 则是确保减数分裂过程精确性的决定性因素[22]。

尽管 H2A.Z 在多种生物中的功能已有广泛研究，但其在禾谷镰孢这一重要植物病原菌中的具体生物学功能却尚未被系统解析。本研究通过生物信息学手段精准鉴定了 *FgHTZ1* 基因编码禾谷镰孢 H2A.Z，并利用同源重组技术成功构建了该基因的敲除突变体。表型分析揭示，*FgHTZ1* 的缺失对禾谷镰孢产生了多效性影响，这些影响不仅体现在菌株的营养生长和形态建成上，更显著地削弱了其致病能力。具体而言，*FgHTZ1* 缺失突变体在菌落生长速率、菌丝极性生长、分生孢子形态建成及产孢能力等方面均表现出显著缺陷，这些缺陷直接导致其致病力的显著下降。

进一步地分析发现，*FgHTZ1* 的缺失还显著影响了禾谷镰孢对渗透压和氧化胁迫的响应能力。突变体对 NaCl 和山梨醇等渗透胁迫剂以及 H_2O_2 等氧化胁迫剂的敏感性显著增强，这表明 *FgHTZ1* 在禾谷镰孢的胁迫应答机制中扮演着至

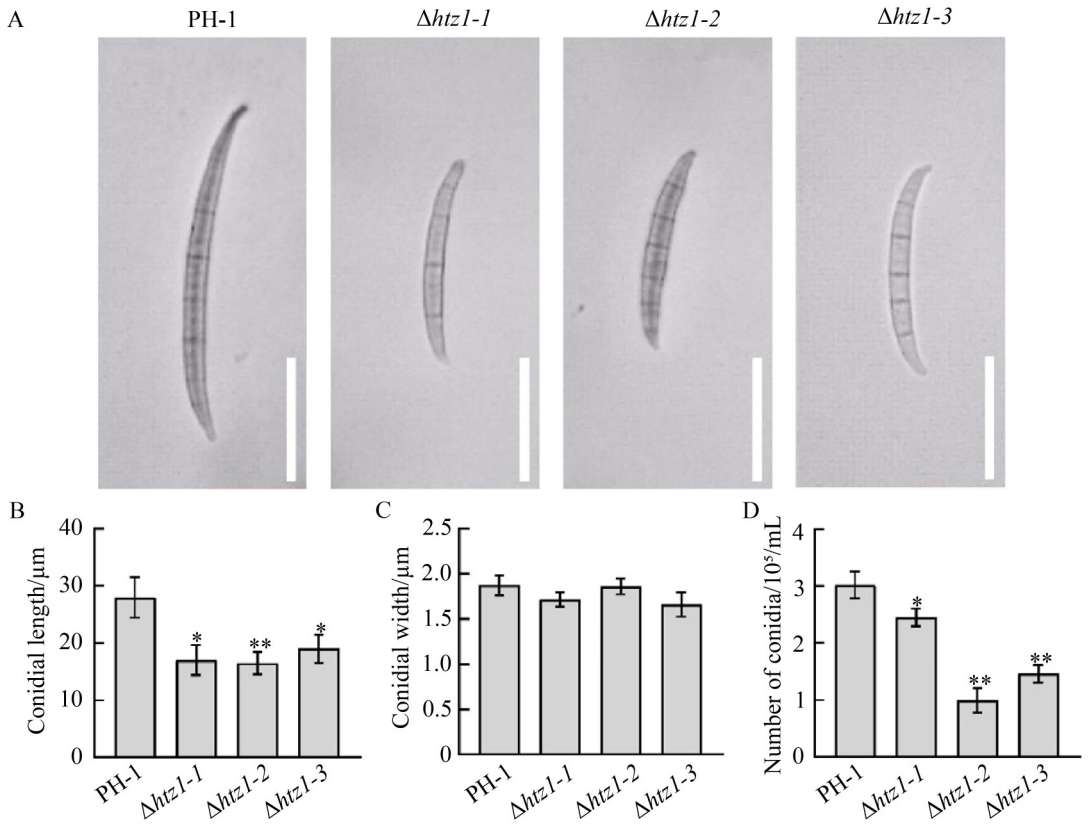


图5 禾谷镰孢*FgHTZ1*基因突变对分生孢子发育的影响

Figure 5 The influence of *FgHTZ1* mutation on conidial development of *Fusarium graminearum*. A: Conidial morphology of PH-1 and *FgHTZ1* mutants (Bar=10 μm); B, C: Conidial length and width of PH-1 and *FgHTZ1* mutants; D: The number of conidia produced by PH-1 and *FgHTZ1* mutants. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

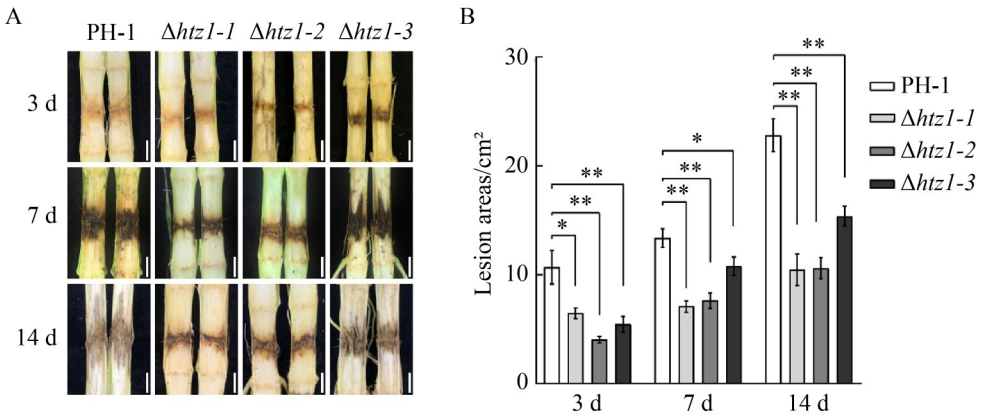


图6 *FgHTZ1*突变体的致病力测定

Figure 6 The pathogenicity of *FgHTZ1* mutants. A: Pathogenicity detection of PH-1 and *FgHTZ1* mutants (Bar=2 cm); B: Measurement of lesion areas of 'B73' inoculated with PH-1 and *FgHTZ1* mutants (*: $P<0.05$; **: $P<0.01$).

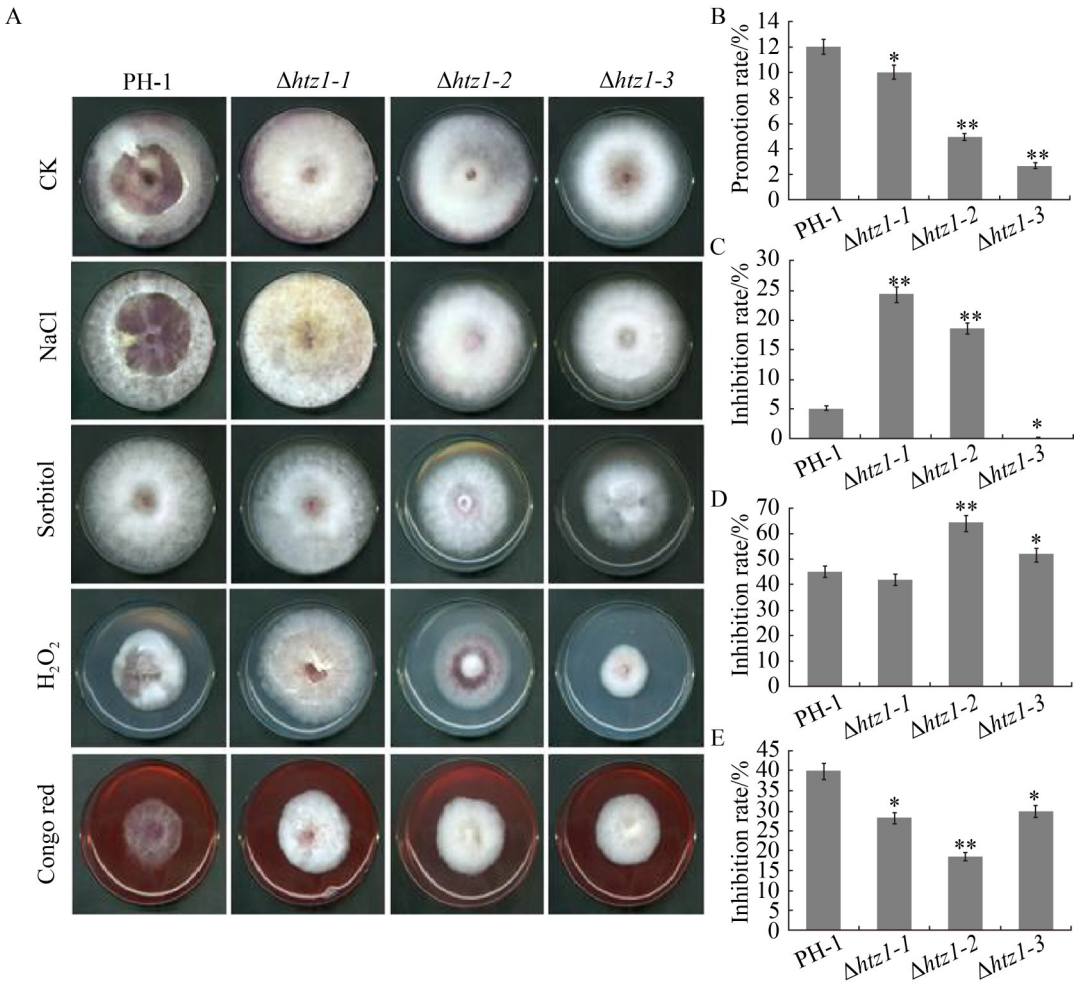


图7 *FgHTZ1*突变体对非生物胁迫的敏感性测定

Figure 7 Sensitivity of *FgHTZ1* mutants to abiotic stress. A: Sensitivity detection of wild type and mutants to various stresses; B: Promotion rate of NaCl on the growth of PH-1 and *FgHTZ1* mutants; C, D, E: Inhibition rate of sorbitol, H_2O_2, Congo red on the growth of PH-1 and *FgHTZ1* mutants. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

关重要的角色。尽管突变体对细胞壁干扰剂刚果红的耐受性有所增强，但这种耐受性可能源于细胞壁组分或通透性的适应性改变，这些改变在赋予突变体抵抗刚果红能力的同时，也可能削弱细胞壁的整体稳定性，从而使其对渗透和氧化胁迫更为敏感。上述结果暗示 *FgHTZ1* 可能参与调控细胞壁合成或修复相关通路，具体机制有待进一步探究。

在深入探讨 *FgHTZ1* 的作用机制时，本研究发现其调控作用可能具有剂量依赖性。在 3 个独立的突变体中，*FgHTZ1* 表达量最低的 Δ*htz1-3* 突变体表现出生长迟缓最为显著，这表明 *FgHTZ1* 的表达水平对禾谷镰孢的正常生长发育至关重要。此外，本研究还发现 *FgHTZ1* 可能通过影响多个生物学过程来调控禾谷镰孢的致病性，这些过程包括但不限于菌丝生长、分生孢子发育、胁迫应答及细胞壁完整性维持等，显示了 H2A.Z 在病原菌生物学中的复杂而核心的作用。

为了更全面地理解 H2A.Z 在植物病原菌中

的功能，本研究进一步对比了 H2A.Z 在其他植物病原菌中的调控作用。例如，在水稻恶苗病菌(*Fusarium fujikuroi*)和粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*)中，H2A.Z 缺失突变体同样表现出显著减缓的菌丝生长速率和降低的致病力[17,23]。本研究在禾谷镰孢中的研究结果与前人研究结论高度一致，进一步支持了 H2A.Z 在植物病原菌生长发育及致病过程中的核心调控作用。

在分子机制层面，SWR1 染色质重塑复合物被证实是介导经典组蛋白 H2A 被 H2A.Z 取代的核心调控因子[24]。酵母遗传学实验显示，SWR1 复合物功能缺陷会导致 H2A.Z 无法发挥其生物学功能，且 Δ*swr1* Δ*htz1* 双突变体的生长障碍比 Δ*htz1* 单突变体更为严重，这揭示了 SWR1 与 H2A.Z 之间紧密的功能关联性[25]。在真核生物中，SWR1 复合物介导的 H2A.Z 整合是基因表达调控的关键环节，它通过改变染色质构象来影响下游基因的转录活性[26-28]。此外，H2A.Z 在有丝分裂异染色质中的特异性定位也使其成为发育调控和环境适应过程中的关键转录调控因子[29]。

基于以上研究背景，我们推测在禾谷镰孢中 SWR1 复合物可能同样通过介导 H2A.Z 的整合来调控相关基因的表达，进而影响菌株的生长发育及致病性。因此，深入探究禾谷镰孢中 SWR1 复合物与 FgHTZ1 的互作机制将有助于从表观遗传调控层面全面阐明 H2A.Z 调控病原菌生长发育及致病性的分子基础。这不仅有助于更深入地理解禾谷镰孢的致病机理，也为开发基于表观遗传调控的新型防控策略提供了重要的理论依据和潜在的靶点。

4 结论

本研究鉴定了禾谷镰孢组蛋白变体 H2A.Z 的编码基因 *FgHTZ1*，并揭示了其作为核心正调控因子的生物学功能。*FgHTZ1* 不仅正向调控禾谷镰孢的营养生长、形态建成和致病力，还参与介导了菌株对渗透胁迫和氧化胁迫的应答反应，并对维持细胞壁完整性具有关键作用。这些发现为深入阐明 H2A.Z 组蛋白变体在禾谷镰孢生物学特性调控中的分子机理提供了重要的理论依据。

作者贡献声明

尚飞飞：实验操作；柳健虎：数据分析及论文初稿撰写；曹宏哲、藏金萍：审核与编辑写作；张康：项目管理，提供资源；邢继红：项目管理，提供资源，负责论文最终定稿；董金皋：指导监督。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

[1] Goswami RS, Kistler HC. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops[J]. Molecular Plant Pathology, 2004, 5(6): 515-525.
[2] Shirai A, Hosono K, Tanaka A, Tabata A. Effects of the wavelength and irradiance level of short-wave blue light on mycelial growth and deoxynivalenol production in *Gibberella zeae*[J]. Fungal Biology, 2025, 129(8): 101690.
[3] O'Donnell K, Kistler HC, Tacke BK, Casper HH. Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000, 97(14): 7905-7910.
[4] Dai LC, Xu N, Zhou Z. NMR investigations on H2A-H2B heterodimer dynamics conferred by histone variant H2A.Z[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 518(4): 752-758.
[5] Luger K, Dechassa ML, Tremethick DJ. New insights into nucleosome and chromatin structure: an ordered state or a disordered affair?[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2012, 13(7): 436-447.
[6] Li B, Carey M, Workman JL. The role of chromatin during transcription[J]. Cell, 2007, 128(4): 707-719.
[7] Hou HT, Wang Y, Kallgren SP, Thompson J, Yates JR, Jia ST. Histone variant H2A. Z regulates centromere silencing and chromosome segregation in fission yeast[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(3): 1909-1918.
[8] Ranjan A, Mizuguchi G, FitzGerald PC, Wei D, Wang F, Huang YZ, Luk E, Woodcock CL, Wu C. Nucleosome-free region dominates histone acetylation in targeting SWR1 to promoters for H2A. Z replacement[J]. Cell, 2013, 154(6): 1232-1245.
[9] Li ZY, Gadue P, Chen KF, Jiao Y, Tuteja G, Schug J, Li

W, Kaestner KH. Foxa2 and H2A.Z mediate nucleosome depletion during embryonic stem cell differentiation[J]. Cell, 2012, 151(7): 1608-1616.
[10] Yu JL, Sui FR, Gu F, Li WJ, Yu ZS, Wang QM, He S, Wang L, Xu YH. Structural insights into histone exchange by human SRCAP complex[J]. Cell Discovery, 2024, 10: 15.
[11] Ignatyeva M, Patel AKM, Ibrahim A, Albiheyri RS, Zari AT, Bahieldin A, Bronner C, Sabir JSM, Hamiche A. Identification and characterization of HIRIP3 as a histone H2A chaperone[J]. Cells, 2024, 13(3): 273.
[12] Raisner RM, Hartley PD, Meneghini MD, Bao MZ, Liu CL, Schreiber SL, Rando OJ, Madhani HD. Histone variant H2A. Z marks the 5′ ends of both active and inactive genes in euchromatin[J]. Cell, 2005, 123(2): 233-248.
[13] Faast R, Thonglairoam V, Schulz TC, Beall J, Wells JRE, Taylor H, Matthaei K, Rathjen PD, Tremethick DJ, Lyons I. Histone variant H2A.Z is required for early mammalian development[J]. Current Biology, 2001, 11(15): 1183-1187.
[14] Xu QH, Huang CY, Ming J, Lu XK, Liu L, Du ZH, Chen Z, Na J, Li GH, Xiang YL, Zhang Y, Xie W. H2A.Z is essential for oocyte maturation and fertility in female mouse[J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2025, 32(10): 1894-1906.
[15] Smith AP, Jain A, Deal RB, Nagarajan VK, Poling MD, Raghothama KG, Meagher RB. Histone H2A.Z regulates the expression of several classes of phosphate starvation response genes but not as a transcriptional activator[J]. Plant Physiology, 2010, 152(1): 217-225.
[16] Creyghton MP, Markoulaki S, Levine SS, Hanna J, Lodato MA, Sha K, Young RA, Jaenisch R, Boyer LA. H2AZ is enriched at polycomb complex target genes in ES cells and is necessary for lineage commitment[J]. Cell, 2008, 135(4): 649-661.
[17] Atanasoff-Kardjalieff AK, Berger H, Steinert K, Janevska S, Ponts N, Humpf HU, Kalinina S, Studt-Reinhold L. Incorporation of the histone variant H2A. Z counteracts gene silencing mediated by H3K27 trimethylation in *Fusarium fujikuroi*[J]. Epigenetics & Chromatin, 2024, 17: 7.
[18] Greaves IK, Rangasamy D, Ridgway P, Tremethick DJ. H2A. Z contributes to the unique 3D structure of the centromere[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(2): 525-530.
[19] Crevillén P, Dean C. Regulation of the floral repressor gene *FLC* the complexity of transcription in a chromatin context[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2011, 14(1): 38-44.
[20] Van der Woude LC, Perrella G, Snoek BL, van Hoogdalem M, Novák O, van Verk MC, van Kooten HN, Zorn LE, Tonckens R, Dongus JA, Praat M, Stouten EA, Proveniers MCG, Vellutini E, Patitaki E, Shapulatov U, Kohlen W, Balasubramanian S, Ljung K, van der Krol AR, et al. HISTONE DEACETYLASE 9 stimulates auxin-dependent thermomorphogenesis in *Arabidopsis thaliana* by mediating H2A. Z depletion[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(50): 25343-25354.
[21] Li XY, Li H, Liu Q, Song RT, Zhang HR, Pan J, Li ZC, Jiang DH. FVE and HDA9 form a complex to promote thermomorphogenesis by reducing H2A. Z deposition through histone deacetylation[J]. The Plant Cell, 2026, 38(4): koag072.
[22] Sharma U, Stefanova D, Holmes SG. Histone variant H2A. Z functions in sister chromatid cohesion in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Molecular and Cellular Biology, 2013, 33(17): 3473-3481.
[23] Courtney AJ, Kamei M, Ferraro AR, Gai KX, He Q, Honda S, Lewis ZA. Normal patterns of histone H3K27 methylation require the histone variant H2A. Z in *Neurospora crassa*[J]. Genetics, 2020, 216(1): 51-66.
[24] Mizuguchi G, Shen XT, Landry J, Wu WH, Sen S, Wu C. ATP-driven exchange of histone H2AZ variant catalyzed by SWR1 chromatin remodeling complex[J]. Science, 2004, 303(5656): 343-348.
[25] Morillo-Huesca M, Clemente-Ruiz M, Andújar E, Prado F. The SWR1 histone replacement complex causes genetic instability and genome-wide transcription misregulation in the absence of H2A. Z[J]. PLoS One, 2010, 5(8): e12143.
[26] Chen HR, Wang WT, Chen X, Niu YK, Qi YY, Yu Z, Xiong MY, Xu PB, Wang WX, Guo TT, Yang HQ, Mao ZL. PIFs interact with SWI_2/SNF2-related 1 complex subunit 6 to regulate H2A. Z deposition and photomorphogenesis in *Arabidopsis*[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2023, 50(12): 983-992.
[27] Wei XX, Wang WT, Xu P, Wang WX, Guo TT, Kou S, Liu MQ, Niu YK, Yang HQ, Mao ZL. Phytochrome B interacts with SWC6 and ARP6 to regulate H2A. Z deposition and photomorphogensis in *Arabidopsis*[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2021, 63(6): 1133-1146.
[28] Thakar A, Gupta P, Ishibashi T, Finn R, Silva-Moreno B, Uchiyama S, Fukui K, Tomschik M, Ausio J, Zlatanova J. H2A. Z and H3.3 histone variants affect nucleosome structure: biochemical and biophysical studies[J]. Biochemistry, 2009, 48(46): 10852-10857.
[29] Talbert PB, Henikoff S. Environmental responses mediated by histone variants[J]. Trends in Cell Biology, 2014, 24(11): 642-650.