西瓜 ClE2F/DP 家族全基因组鉴定及其在瓜蚜胁迫下的表达模式分析*

陈黎明** 杨启帆 张千一 张爱环 张志勇 郭洪刚***

（北京农学院生物与资源环境学院，农业农村部华北都市农业重点实验室，北京 102206）

摘 要 **【目的】** 探究西瓜 *Citrullus lanatus* ClE2F/DP 基因家族对瓜蚜 *Aphis gossypii* 的抗蚜作用。**【方法】** 使用 MEGA7、TBtools、MEME 等对西瓜 ClE2F/DP 家族进行全基因组鉴定和生物信息学分析，并利用 qRT-PCR 分析了瓜蚜取食前后西瓜 *ClE2F/DP* 基因的相对表达量。**【结果】** 共鉴定西瓜基因组中有 6 个 ClE2F/DP 成员，其中 ClE2FA、ClE2FC 为第一类不稳定亲水酸性蛋白，ClDP 为第二类二聚蛋白，ClE2FE1 为第三类不稳定亲水碱性蛋白，而且结合结构以及已有文献报道推测二聚蛋白 ClDP 及不稳定亲水碱性蛋白 ClE2FEC、ClE2FE1 可能参与植物抗病虫害过程。*ClE2FA* 在蚜虫取食 24 h 后基因表达量上调 2.5 倍，*ClE2FE1* 在蚜虫取食 48 h 后基因表达量先上调 2.1 倍，随后在取食 72 h 后表达量下调 1.7 倍；*ClE2FC*、*ClDP* 在蚜虫取食 24 h 后显著下调超过 2 倍（$P < 0.001$），说明西瓜 *ClE2F/DP* 基因响应瓜蚜取食。**【结论】** 西瓜 ClE2F/DP 基因家族在响应蚜虫取食时存在显著的异质性。

关键词 西瓜；E2F/DP 转录因子；生物信息学；瓜蚜侵染；基因表达模式

Genome-wide identification of the ClE2F/DP gene family in watermelon plants and its expression in plants infested with melon aphids

CHEN Li-Ming** YANG Qi-Fan ZHANG Qian-Yi ZHANG Ai-Huan
ZHANG Zhi-Yong GUO Hong-Gang***

(Key Laboratory of Urban Agriculture in North China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, College of Biology, Resources and Environment, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract **[Aim]** To investigate the role of the ClE2F/DP gene family in protecting watermelon plants (*Citrullus lanatus*) from melon aphid (*Aphis gossypii*) infestation. **[Methods]** The ClE2F/DP family in watermelon plants was identified and analyzed using bioinformatic tools, including MEGA7, TBtools, and MEME. The relative expression levels of *ClE2F/DP* genes were analyzed in watermelon leaves that were, or were not, infested with melon aphids, using qRT-PCR. **[Results]** There are a total of six members of the ClE2F/DP family in the watermelon genome. ClE2FA and ClE2FC are classified as unstable hydrophilic acidic proteins, ClDP is a dimeric protein, and ClE2FE1 is an unstable hydrophilic basic protein. Based on their structural characteristics and information in the literature, it is possible that ClDP, ClE2FC, and ClE2FE1 may be involved in resistance to aphid infestation. The relative expression of *ClE2FA* underwent a significant 2.5-fold increase 24 h after aphid infestation. Relative expression of *ClE2FE1* increased 2.1-fold 48 h after aphid infestation, then decreased by 1.7-fold after 72 h. The relative expression of *ClE2FC* and *ClDP* both significantly decreased by over 2.0-fold 24 h after aphid infestation ($P < 0.001$). These results indicate that watermelon *ClE2F/DP* genes may be involved in the response to aphid infestation. **[Conclusion]** There are clear differences in the expression of *ClE2F/DP* genes in

*资助项目 Supported projects：国家自然基金青年基金（32102212）；北京市昌平区“科技副总”专项资助（202506003055）

**第一作者 First author，E-mail：clm000999@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：guohonggang1@163.com

收稿日期 Received：2025-05-06；接受日期 Accepted：2025-12-01

response to aphid infestation.

Key words　watermelon plants; E2F/DP transcription factor; bioinformatics; melon aphids infestation; gene expression pattern

中国是世界上西瓜 *Citrullus lanatus* 生产与消费第一大国，2022 年生产面积达 1.48×10^6 hm^2，产量达 6 302.31 万吨（国家统计局，2022），成为许多地区创建农业优势产品的重要作物（黄华宁等，2014）。在西瓜生产种植过程中，病虫害的发生是限制瓜类作物产量、降低瓜类作物品质、拉低瓜类作物产值的重要因素。其中，瓜蚜 *Aphis gossypii* 是瓜类作物种植过程中的第一大害虫，每年可造成瓜类作物 30%以上的产量损失（陈敏炀等，2017）。由于生产中农药的频繁及不合理使用情况加重，瓜蚜抗药性增强，致使防治困难增加。

植物与植食性昆虫的协同进化，形成了一整套复杂且多层次的抗虫防御体系。在蚜虫取食过程中，植物表面物理结构抗性，比如植毛体与蜡质分泌物等是抵御蚜虫危害的首道防线（Shi *et al.*，2025；Yang *et al.*，2025）；当蚜虫开始尝试刺探植物表面时，植物感知到昆虫取食（机械损伤以及昆虫分泌的唾液等）会启动植物的化学抗性。其中，植物激素信号[如水杨酸（Salicylic acid，SA）、茉莉酸、脱落酸信号途径]介导的昆虫抗性得到广泛研究（Zhang *et al.*, 2023; Liang *et al.*, 2024; Luo *et al.*, 2025）；当蚜虫到达韧皮部取食时，植物主要产生两方面的阻塞机制，一种是胼胝质沉积作用（Zhang *et al.*，2024），另一种是蛋白质凝集作用（Li *et al.*，2023）。以上研究为通过研究瓜类作物抗虫机理、挖掘抗虫新基因、培育抗虫新品种，实现瓜蚜有效控制提供了重要的理论支撑。

国内外学者研究证明，瓜类作物抗蚜机制存在物理防御（任佳等, 2014; Zhang *et al.*, 2017），如黄瓜 *Cucumis sativus* 中编码 C 型凝集素类受体激酶 CsTM 与液泡膜内在蛋白（Tonoplast intrinsic proteins，CsTIP1;1）互作，改变植毛体形态而增强对瓜蚜的抗性（Yang *et al.*，2025）；化学防御（周福才等，2014；梁郸娜等，2016；He *et al.*，2022；Zhang *et al.*，2022；Li *et al.*，2023, 2025），如不同西瓜品种瓜蚜抗性差异（金美都、京欣、甜王、早佳、美福莱、西农）与韧皮部胼胝质沉积相关（Zhang *et al.*，2024）；以及抗蚜性遗传（陈青等，2020；Gu *et al.*，2024）等方面。在抗蚜遗传研究方面，利用 RAPD 标记，在西瓜中筛选获得一个在抗蚜 DNA 中特异的差异带（陈青等，2020）；在甜瓜 *Cucumis melo* 中定位到一个 *vat* 基因参与瓜蚜抗性（Boissot *et al.*，2010），而且甜瓜中包含多个 *Vat-1*$^{PI\ 161375}$ 的同源基因，在甜瓜对瓜蚜的抗性调控过程中发挥作用（Boissot *et al.*，2023）；在黄瓜中鉴定到多个基因可能参与黄瓜抗瓜蚜（Liang *et al.*，2015，2016）。

E2F/DP 作为植物一类重要的转录复合体，已被报道其转录因子在植物抗生物胁迫过程发挥重要作用（Chandran *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014; 高庆远等, 2023），其中转录因子 GmDPB 过表达抑制大豆抗疫霉菌（Zhu *et al.*，2023），拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 非典型 E2F 转录因子 AtDEL1 转录抑制 SA 转运蛋白 EDS5，增加拟南芥对白粉病菌敏感性（Chandran *et al.*，2014），表明 E2F/DP 转录因子在调控植物防御反应中的作用并不一致。E2F/DP 转录因子是否在瓜类作物抗蚜过程中也发挥作用，值得深入探究。

1　材料与方法

1.1　实验材料

瓜蚜：实验室内饲养的稳定种群，饲养瓜蚜的培养箱为 BIC-250（上海博迅医疗生物仪器股份有限公司，上海，中国）条件设置：光照：16 L∶18 D；温度：28 ℃∶20 ℃（L∶D）；相对湿度：65%∶45%（L∶D），定期补充新的西瓜苗供蚜虫繁殖种群。

西瓜品种‘97103’：种子资源由北京市农林科学院蔬菜研究中心西甜瓜遗传育种创新团队和西北农林科技大学园艺学院魏春华教授团队提供。

1.2 基因组数据获取

基于在线发表的基因组数据库资源，从 CuGenDBv2（cucurbitgenomics.org）获取西瓜全基因组数据，从 TAIR（arabidopsis.org）获取拟南芥全基因组数据。

1.3 西瓜 ClE2F/DP 家族系统进化树分析

利用 TBtools 软件，以拟南芥 E2F/DP 家族蛋白为参考进行 BLAST 分析，默认参数（其中 *E*-value < $1\times e^{-5}$），找出西瓜中 ClE2F/DP 家族成员；用 MEGA7.0 软件采用邻接法（Neighbor joining, NJ）建树（设置 Bootstrap 值为 1 000，Model 为 P-distance 模型，Partial deletion 值为 50%，其余参数按照默认设置），将西瓜、拟南芥、冬瓜 *Benincasa hispida*、黄瓜、甜瓜、葫芦 *Lagenaria siceraria* 和印度南瓜 *Cucurbita maxima* E2F/DP 基因家族进行系统进化树构建，并利用 iTOL: Interactive tree of life（embl.de）网站对进化树进行美化。

1.4 西瓜 ClE2F/DP 家族成员的生物信息学分析

利用 ProtParam 在线分析工具预测氨基酸数、蛋白质的相对分子质量、等电点、稳定性指数、脂肪系数、总平均亲水性等理化性质。运用 National Center for Biotechnology Information（nih.gov）数据库对西瓜 ClE2F/DP 家族成员保守结构域进行预测，运用 TBtools 软件对所预测得到的保守结构域进行可视化呈现。应用 MEME 在线网站（https://meme-suite.org/meme/tools/meme）对西瓜 ClE2F/DP 家族成员的蛋白质保守基序进行分析。在 National Center for Biotechnology Information（nih.gov）数据库下载西瓜‘97103’基因组 gff 文件，然后运用 TBtools 对 gff 文件进行染色体定位分析。

1.5 西瓜‘97103’接虫处理

选取西瓜‘97103’四叶一心时期、生长一致的西瓜植株进行蚜虫取食实验，选取自下而上的第 3 片真叶进行接虫处理，每个叶片上接虫 300 只成蚜，未接虫叶片（0 h）作为对照，分别选取未接虫叶片（0 h）及蚜虫取食 6、12、24、48 和 72 h 叶片，用于后续 *ClE2F*/*DP* 基因相对表达量的分析，每个时间点进行 3 个生物重复，每个重复 6 株西瓜苗。

1.6 西瓜叶片总 RNA 提取及 cDNA 合成

选用微量总 RNA 提取试剂盒[TR150-200，简石生物技术（北京）有限公司，北京，中国]提取西瓜‘97103’叶片总 RNA，运用 nanodrop 2000（基因生物技术国际贸易（上海）有限公司，上海，中国）测定 RNA 的浓度和质量，置于 - 80 ℃冰箱保存备用。选用 TRUEscript RT MasterMix 试剂盒（PC5801，北京艾德莱生物科技有限公司，北京，中国）反转录生成 cDNA，并置于 4 ℃冰箱保存备用。

1.7 西瓜叶片 *ClE2F*/*DP* 基因表达量分析

西瓜叶片 *ClE2F*/*DP* 基因的实时荧光定量 PCR 使用 2xSYBR Green qPCR Mix 试剂盒（PC3301，北京艾德莱生物科技有限公司，北京，中国），利用 Q9600 荧光定量 PCR 仪（杭州柏恒科技有限公司，浙江，杭州，中国）进行实时荧光定量 PCR 反应，具体方法如下：

1）荧光定量 PCR 的反应终体系为 20 μL，包括 7.6 μL RNase-Free ddH_2O，引物 1 μL，模板 1 μL，混合后的 PreMix 10.4 μL，其余用 dd H_2O 补齐。

2）两步法荧光定量 PCR：95 ℃（15 min），95 ℃（10 s）；58 ℃（30 s）40 个循环；溶解曲线：95 ℃（1 min）；55 ℃（30 s）；95 ℃（30 s）。

根据西瓜 *ClE2F*/*DP* 基因序列，利用在线引物设计软件 Primer3 Plus 设计实时荧光定量 PCR 引物（表 1），以西瓜 *ClACTIN-7*（*Cla97C02G026960*）作为内参基因。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因表达量，使用 IBM SPSS Statistics 24.0 软件（IBM, Armonk, NY, USA）进行单因素方差分析，GraphPad Prism（v9.4）制作基因表达柱形图。每组 3 个生物重复和 3 个技术重复。

表 1　RT-qPCR 引物序列
Table 1　RT-qPCR primer sequences

基因 Gene	基因编号 Gene no.	正向引物（5′-3′）Forward primer (5′-3′)	反向引物（5′-3′）Reverse primer (5′-3′)
ClE2FA	Cla97C04G077210	TTCCTGATCCTGATGAAGCT	TCTACTACTCTCCCCGATGA
ClE2FB	Cla97C02G048470	TTGAAGCGAAGTTTGAGGAG	CGTTTAGATCGGAGCACATT
ClE2FC	Cla97C08G157910	GTTTCCTTCAGTACCATCGG	AAGCCTCGGACTCATCAATA
ClE2FE1	Cla97C06G126260	GCCAATGACCACTCAAGATT	GAGCTTGACAAAATTCTGCG
ClE2FE2	Cla97C01G013130	TCAAGAATGCGAACGAACTT	CCATGATTTCCAAGCTTCCA
ClDP	Cla97C10G192290	TGAGGTTGCAGATGAACTTG	GCAGACCCTTCCATTGTATC

2　结果与分析

2.1　西瓜 ClE2F/DP 家族成员鉴定和系统进化树

以拟南芥 E2F/DP 家族成员的蛋白序列作为参考，从西瓜‘97103’基因组数据库共鉴定到西瓜 ClE2F/DP 家族有 6 个 ClE2F/DP 成员，分别命名为 ClE2FA（Cla97C04G077210）、ClE2FB（Cla97C02G048470）、ClE2FC（Cla97C08G157910）、ClE2FE1（Cla97C06G126260）、ClE2FE2（Cla97C01G013130）、ClDP（Cla97C10G192290）（图 1）。进一步对 8 个拟南芥 AtE2F/DPs、6 个冬瓜 BhiE2Fs、7 个甜瓜 MelE2Fs、7 个黄瓜 CsaE2F/DPs、7 个葫芦 LsiE2F/DPs、11 个印度南瓜 CmaE2F/DPs 和西瓜 6 个 ClE2F/DPs 的蛋白质序列进行多序列分析，可以将西瓜 ClE2F/DP 成员分成 3 个亚族（图 1），一类为典型的 E2F 类转录因子，需要与 DP 蛋白结合才能发挥功能，包括 ClE2FA、ClE2FB、ClE2FC，与拟南芥 AtE2FA、AtE2FB 和 AtE2FC 聚类成一分支，Bootstrap 支持率分别为 84、100 和 94（图 1）；一类为非典型 E2F 类转录因子，可以独立结合 DNA，包括 ClE2FE1 和 ClE2FE2，与拟南芥 AtE2FD、AtE2FE 和 AtE2FF 聚类为一个分支，Bootstrap 支持率都为 100（图 1）；第三类为 DP 类转录因子，即 ClDP，与拟南芥 AtDPA 和 AtDPB 聚类为一个分支，Bootstrap 支持率都为 100（图 1）。

2.2　西瓜 ClE2F/DP 家族成员蛋白保守结构及染色体定位

对西瓜‘97103’ClE2F/DP 转录因子家族成员保守结构进行分析，共发现 6 个保守基序（图 2：A）及 3 个保守结构域元件（图 2：B）。西瓜 ClE2F/DP 转录因子家族成员都含有 E2F_TDP 保守结构域，主要特征是有翼螺旋 DNA 结合结构域，能刺激 E2F 依赖性转录。进一步分析发现不同 ClE2F/DP 转录因子的结构特征也有所区别，ClE2FA、ClE2FB 和 ClE2FC 具有相似保守基序，包括 Motif 1、Motif 2、Motif 3、Motif 4 和 Motif 5，其中 ClE2FA 和 ClE2FB 单独还含有 E2F_CC-MB 保守结构域，ClE2FC 单独具有 E2F-DD 保守结构域，为 E2F 转录因子的二聚结构域。ClE2FE1 和 ClE2FE2 结构域元件相似，都包含 Motif 1、Motif 2 和 Motif 6（图 2：A），以及含有 2 个重复的 DNA 结合结构域，即 E2F_TDP 结构域，是非典型 E2F 基因家族蛋白成员结构特点（图 2：B）。ClDP 含有单独的 Motif 6，通过 InterPro 对 Motif 6 蛋白质序列进行分析，表示为 E2F/DP 家族翼状螺旋 DNA 结合结构域，即 E2F_TDP 保守结构域（图 2）。

进一步通过对 ClE2F/DP 家族成员染色体位置分析发现，*ClE2FA* 在 4 号染色体上，*ClE2FB* 在 2 号染色体上，*ClE2FC* 在 8 号染色体上，*ClE2FE1* 在 6 号染色体上，*ClE2FE2* 在 1 号染色体上，*ClDP* 基因在 10 号染色体上（图 3）。

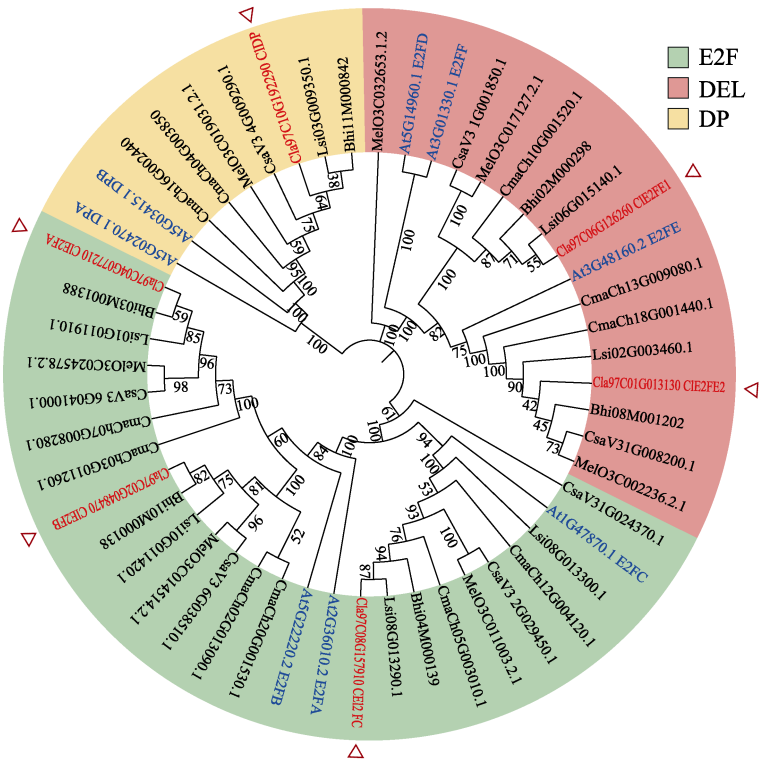


图 1　西瓜、拟南芥、冬瓜、黄瓜、甜瓜、葫芦和印度南瓜 E2F/DP 家族成员系统发育树

Fig. 1　Phylogenetic tree of E2F/DP gene family in watermelon, arabidopsis, winter melon, cucumber, melon, gourd and Indian pumpkin

图中分支下线上的数字表示支持率（bootstrap 值）；西瓜 ClE2F/DP 家族成员（Cla97C04G077210 ClE2FA、Cla97C02G048470 ClE2FB、Cla97C08G157910 ClE2FC、Cla97C06G126260 ClE2FE1、Cla97C01G013130 ClE2FE2、Cla97C10G192290 ClDP，三角形标记所示）；拟南芥 ClE2F/DP 家族成员（AT2G36010.2 E2FA、AT5G22220.2 E2FB、AT1G47870.1 E2FC、AT5G14960.1 E2FD、AT3G48160.2 E2FE、AT3G01330.1 E2FF、AT5G02470.1 DPA、AT5G03415.1 DPB）；冬瓜 ClE2F/DP 家族成员（Bhi03M001388、Bhi10M000138、Bhi04M000139、Bhi08M001202、Bhi02M000298、Bhi11M000842）；黄瓜 ClE2F/DP 家族成员（CsaV34G009290.1、CsaV31G001850.1、CsaV31G024370.1、CsaV32G029450.1、CsaV36G038510.1、CsaV31G008200.1、CsaV36G041000.1）；甜瓜 ClE2F/DP 家族成员（MELO3C032653.2.1、MELO3C017127.2.1、MELO3C002236.2.1、MELO3C011003.2.1、MELO3C014514.2.1、MELO3C024578.2.1、MELO3C019031.2.1）；葫芦 ClE2F/DP 家族成员（Lsi06G015140.1、Lsi02G003460.1、Lsi08G013300.1、Lsi08G013290.1、Lsi10G011420.1、Lsi01G011910.1、Lsi03G009350.1）；印度南瓜 ClE2F/DP 家族成员（CmaCh04G003850、CmaCh16G002440、CmaCh10G001520.1、CmaCh13G009080.1、CmaCh18G001440.1、CmaCh12G004120.1、CmaCh05G003010.1、CmaCh20G001530.1、CmaCh02G013090.1、CmaCh03G011260.1、CmaCh07G008280.1）。E2F：典型 E2F 转录因子；DEL：非典型 E2F 转录因子；DP：二聚体伴侣，图 2 同。

The number on the lower line of the branch in the figure indicates the approval rate (bootstrap value); Watermelon ClE2F/DP family (Cla97C04G077210 ClE2FA, Cla97C02G048470 ClE2FB, Cla97C08G157910 ClE2FC, Cla97C06G126260 ClE2FE1, Cla97C01G013130 ClE2FE2, Cla97C10G192290 ClDP; Triangle symbol); Arabidopsis ClE2F/DP family (AT2G36010.2 E2FA, AT5G22220.2 E2FB, AT1G47870.1 E2FC, AT5G14960.1 E2FD, AT3G48160.2 E2FE, AT3G01330.1 E2FF, AT5G02470.1 DPA, AT5G03415.1 DPB); Winter melon ClE2F/DP family (Bhi03M001388, Bhi10M000138, Bhi04M000139, Bhi08M001202, Bhi02M000298, Bhi11M000842); Cucumber ClE2F/DP family (CsaV34G009290.1, CsaV31G001850.1, CsaV31G024370.1, CsaV32G029450.1, CsaV36G038510.1, CsaV31G008200.1, CsaV36G041000.1); Melon ClE2F/DP family (MELO3C032653.2.1, MELO3C017127.2.1, MELO3C002236.2.1, MELO3C011003.2.1, MELO3C014514.2.1, MELO3C024578.2.1, MELO3C019031.2.1); Gourd ClE2F/DP family (Lsi06G015140.1, Lsi02G003460.1, Lsi08G013300.1, Lsi08G013290.1, Lsi10G011420.1, Lsi01G011910.1, Lsi03G009350.1); Indian pumpkin ClE2F/DP family (CmaCh04G003850, CmaCh16G002440, CmaCh10G001520.1, CmaCh13G009080.1, CmaCh18G001440.1, CmaCh12G004120.1, CmaCh05G003010.1, CmaCh20G001530.1, CmaCh02G013090.1, CmaCh03G011260.1, CmaCh07G008280.1). E2F: Typical E2F transcription factor; DEL: Atypical E2F transcription factor; DP: Dimerizing partner, the same for Fig. 2.

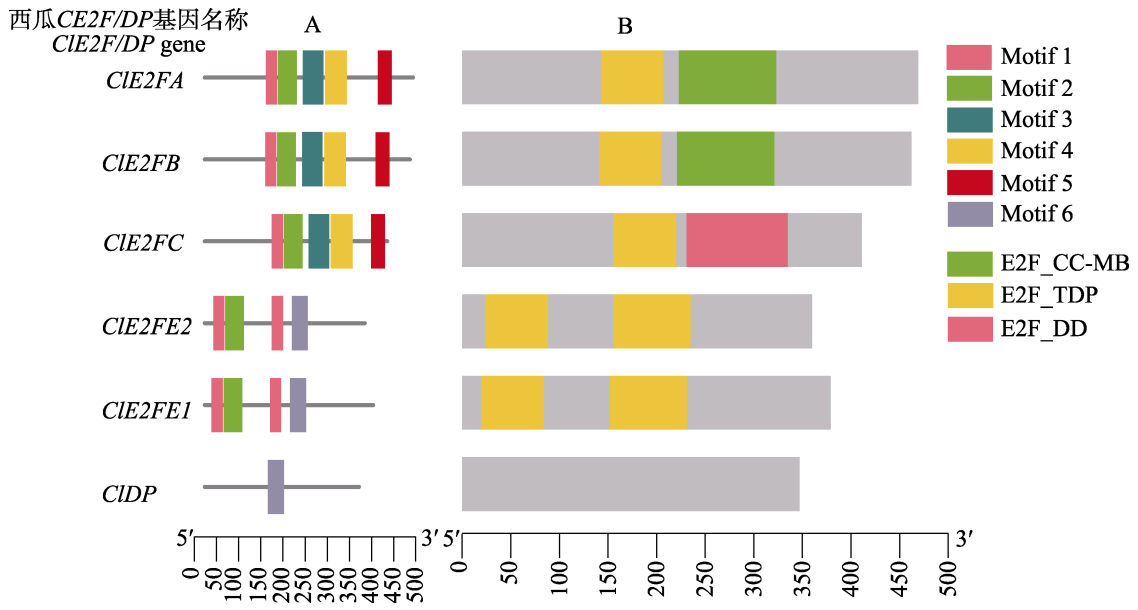


图 2　西瓜 ClE2F/DP 家族成员保守结构分析

Fig. 2　Conserved structure of watermelon ClE2F/DP gene family

A. 保守基序；B. 保守结构域。

A. Conserved motifs; B. Conserved domains.

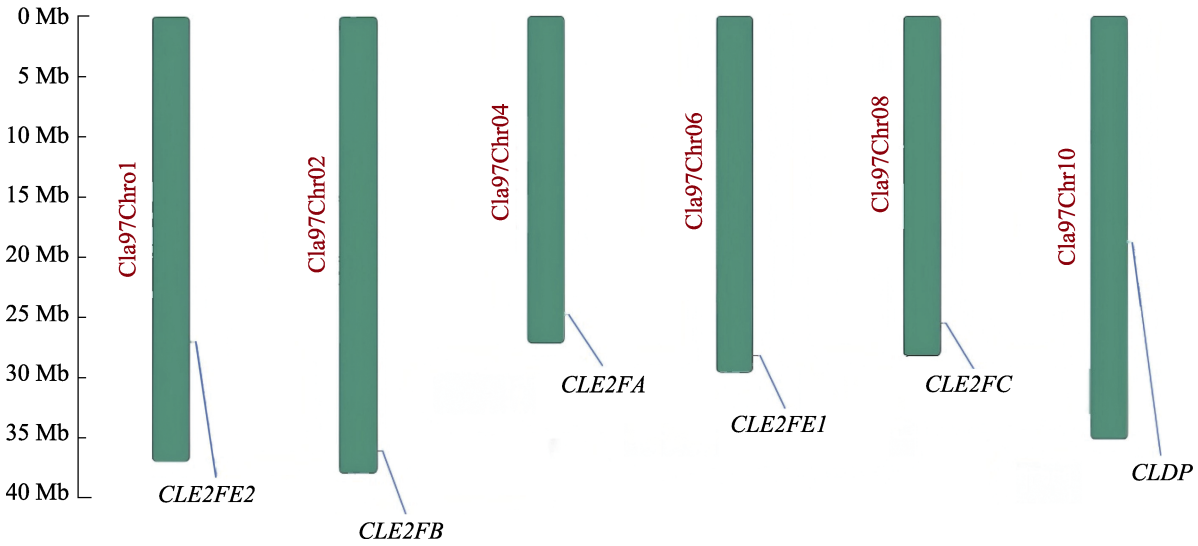


图 3　西瓜 *ClE2F/DP* 基因染色体位置分析

Fig. 3　Chromosome location of *ClE2F/DP* genes in watermelon

2.3　西瓜 ClE2F/DP 家族成员理化性质

通过 ProtParam 在线分析网站，对西瓜 ClE2F/DP 家族 6 个成员的理化性质进行分析，其氨基酸数量在 347-469 间，分子质量在 38 367.80-52 364.53 D 间，其中 ClE2FA 氨基酸数量最多（469）、分子量最大（52 364.53 D）；ClDP 氨基酸数量最少（347）、分子质量最小（38 367.80 D）。6 个 E2F/DP 等电点在 4.79-9.44 间，不稳定指数在 45.06-69.85 间，脂溶指数在 67.44-83.14 间，亲水性平均系数在 - 0.801- - 0.556 范围内（表 2）。因此预测，ClE2FA、ClE2FB、ClE2FC 和 ClDP 4 个蛋白为不稳定亲水酸性蛋白；ClE2FE1 和 ClE2FE2 这两个蛋白为不稳定亲水碱性蛋白。

表 2 西瓜‘97103’ClE2F/DP 家族成员蛋白理化性质

Table 2 Physicochemical properties of ‘97103’ ClE2F/DP protein of watermelon

蛋白名称 Protein name	序列 ID Sequence ID	氨基酸数量 Number of amino acids	分子质量（D） Molecular weight (D)	等电点 pI	不稳定指数 Instability index	脂溶指数 Aliphatic index	亲水性平均系数 Grand average of hydropathicity
ClE2FA	Cla97C04G077210	469	52 364.53	5.34	54.64	76.72	- 0.632
ClE2FB	Cla97C02G048470	462	51 244.13	4.79	52.29	74.68	- 0.637
ClE2FC	Cla97C08G157910	411	46 947.59	6.69	69.85	75.47	- 0.801
ClE2FE1	Cla97C06G126260	379	42 882.60	9.44	45.06	83.14	- 0.556
ClE2FE2	Cla97C01G013130	360	40 163.76	8.87	46.78	69.33	- 0.679
ClDP	Cla97C10G192290	347	38 367.80	5.34	54.10	67.44	- 0.745

2.4 瓜蚜胁迫下西瓜 *ClE2F*/*DP* 基因表达模式

为进一步确定西瓜 *ClE2F*/*DP* 基因是否参与西瓜响应瓜蚜取食过程，利用 qRT-PCR 分析了蚜虫取食 6、12、24、48 和 72 h 后，6 个 *ClE2F*/*DP* 基因的相对表达量，结果表明 *ClE2FA* 基因在蚜虫取食 6、12 和 24 h 后相对表达量显著增高，分别有 3.1、3.1 和 2.5 倍（$P < 0.001$），但在取食 48 和 72 h 后该基因相对表达量恢复到对照水平（图 4：A）；*ClE2FC* 基因在瓜蚜取食 6 h 后相对表达量升高 1.2 倍，随后在取食 12、24、48 和 72 h 后相对表达量显著降低，分别下调 2.5、1.8、2.2 和 2.6 倍（$P < 0.001$）（图 4：C）；*ClE2FB* 基因表达量未受到瓜蚜取食的影响（图 4：B）。与蚜虫未取食叶片相比，*ClE2FE1* 基因在蚜虫取食 48 h 后相对表达量最高，显著增高 2.1 倍（$P < 0.001$）；而蚜虫取食 6 和 72 h 后，该基因相对表达量均显著降低 1.7 倍（$P < 0.001$）（图 4：D）；*ClE2FE2* 基因在蚜虫取食 6 和 24 h 后相对表达量分别升高 1.3 和 1.5 倍（$P = 0.009$）（图 4：E）；*ClDP* 基因在蚜虫取食 24、48 和 72 h 后相对表达量显著降低 2.2、2.8 和 2.4 倍（$P < 0.001$）（图 4：F）。综上所述，瓜蚜取食不同程度的改变了西瓜 *ClE2F*/*DP* 基因的相对表达量，说明 ClE2F/DP 家族成员可能参与西瓜应答瓜蚜取食危害。

3 讨论

本研究以西瓜‘97103’为研究材料，根据在线基因组注释数据，结合 MEGA7、TBtools、MEME 等工具对西瓜的 ClE2F/DP 家族成员进行了保守结构域特征、理化特征分析，发现 ClE2FA、ClE2FB 和 ClE2FC 具有相似结构域特征和理化性质；ClE2FE1 和 ClE2FE2 具有相似结构域特征和理化性质。进一步分析 ClE2F/DP 家族成员随瓜蚜取食时间的相对表达量，发现 *ClE2FA* 和 *ClE2FE1* 基因在蚜虫取食后显著上调表达，*ClE2FC* 和 *ClDP* 在蚜虫取食后显著下调表达，证明了 ClE2F/DP 家族成员参与西瓜抗瓜蚜过程。

根据保守结构分析发现，ClE2FA 和 ClE2FB 均含有 E2F_CC-MB 保守结构域，ClE2FC 具有 E2F_DD 保守结构域；ClE2FE1 和 ClE2FE2 每个都含有 2 个重复的 DNA 结合结构域 E2F_TDP 保守结构域，为 DEL 成员的分子特征，是非典型 E2F 基因家族成员蛋白结构特点。并且 ClE2FA、ClE2FB 和 ClE2FC 都不具有 Motif 6 元件，而 ClE2FE1 和 ClE2FE2 则含有 Motif 6 元件，并且与 ClDP 所仅含的 Motif 6 元件相同，通过 InterPro 对 Motif 6 蛋白质序列进行分析，表示 Motif 6 为 E2F_TDP 保守结构域。这一结果与之前的研究 ClE2F/DP 基因家族中 E2FA、E2FB 和 E2FC 需要与 DP 蛋白结合发挥作用的结构关系相吻合（Mariconti *et al.*，2002；Perrotta *et al.*，2021）。基于此，与拟南芥相似，将 *ClE2FA*、*ClE2FB* 和 *ClE2FC* 确定为一个分支，*ClE2FE1* 和 *ClE2FE2* 确定为一个分支，*ClDP* 确定为一个分支。而且结合已有文献报道，大豆 *GmDPB* 调

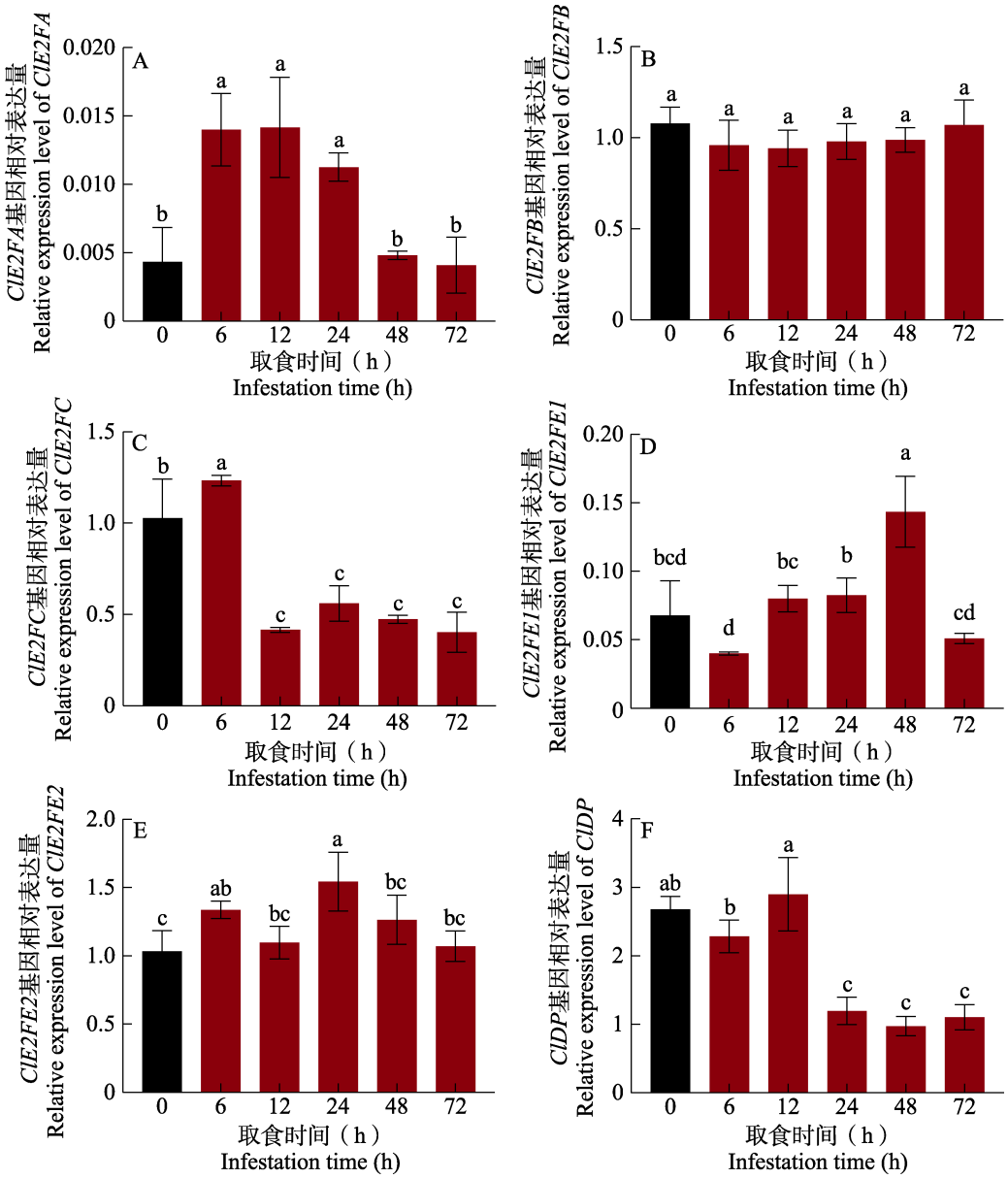


图 4　西瓜 *ClE2F*/*DP* 基因在蚜虫取食 6、12、24、48 和 72 h 后的相对表达量

Fig. 4　The relative expression levels of watermelon *ClE2F*/*DP* genes at 6, 12, 24, 48 and 72 h after melon aphids infestation

A. *ClE2FA*（*Cla97C04G077210*）基因表达量；B. *ClE2FB*（*Cla97C02G048470*）基因表达量；C. *ClE2FC*（*Cla97C08G157910*）基因表达量；D. *ClE2FE1*（*Cla97C06G126260*）基因表达量；E. *ClE2FE2*（*Cla97C01G013130*）基因表达量；F. *ClDP*（*Cla97C10G192290*）基因表达量。图中数据均为平均值±标准误，柱上不同字母表示显著差异（$P < 0.05$，单因素方差分析）。

A. Expression level of *ClE2FA* (*Cla97C04G077210*) gene; B. Expression level of *ClE2FB* (*Cla97C02G048470*) gene; C. Expression level of *ClE2FC* (*Cla97C08G157910*) gene; D. Expression level of *ClE2FE1* (*Cla97C06G126260*) gene; E. Expression level of *ClE2FE2* (*Cla97C01G013130*) gene; F. Expression level of *ClDP* (*Cla97C10G192290*) gene. Data in the figure are mean±SE, and different letters above bars mean significant difference ($P < 0.05$, one-way ANOVA analysis).

控大豆抗疫霉菌（Zhu *et al.*，2023）；拟南芥非典型 E2F 转录因子 *AtDEL1* 调控拟南芥对白粉病菌敏感性（Chandran *et al.*，2014），推测 ClDP、ClE2FE1、ClE2FE2 可能参与西瓜响应病虫害胁迫过程。

本研究发现，*ClE2F*/*DP* 基因不同程度的响

应瓜蚜取食，其中 *ClE2FA* 和 *ClE2FE2* 在蚜虫取食后上调表达；而 *ClE2FC* 在蚜虫取食短暂上调表达后，呈现明显的下调表达，与 *ClDP* 在取食后下调表达的趋势相似，而西瓜 *ClE2FC* 基因与拟南芥 *E2FC* 基因共同聚类，因此 *ClE2FC* 与 *ClDP* 相似的下调表达趋势可能与 *ClE2FC* 需要与 *ClDP* 结合形成 E2FC/DP 复合物，进而竞争结合到靶基因的 E2F 结合位点发挥负调控因子的功能相关（del Pozo *et al.*，2002；Kosugi and Ohashi，2002；李紫薇，2015）。*ClE2FE1* 基因在蚜虫取食 6 h 后表达量下调，48 h 后基因表达量上调，其后在 72 h 后又下调，这与杧果中，属于 *DEL* 分支的 *MiE2F7* 基因在胶孢炭疽菌胁迫过程中呈先下调再上调后下调的表达趋势相似（高庆远等，2023）。在拟南芥中，白粉病真菌胁迫下，非典型 *E2F DEL1* 促进细胞增殖，抑制激素 SA 的积累来调节植物免疫（Chandran *et al.*, 2014）；而且西瓜 *ClE2FE1* 与拟南芥 *E2FE*（非典型 *E2F DEL1*）共同聚类，推测西瓜 *ClE2FE1* 基因在蚜虫取食后的表达波动可能参与西瓜对瓜蚜的防御过程。而且对于不同的 *ClE2F*/*DP* 基因对瓜蚜取食呈现差异化表达模式，一个可能的调控机制是 E2F/DP 家族内“激活-抑制”亚群的分化（Magyar *et al.*，2016），致使不同的 E2F/DP 表达模式存在差异。例如在光响应条件下，*AtE2Fb* 是 *AtE2Fe* 表达的激活转录因子，*AtE2Fc* 是 *AtE2Fe* 表达的抑制转录因子（Berckmans *et al.*，2011）；前期的研究发现将暗培养的拟南芥幼苗转移至光照条件下，会快速使 AtE2Fb 蛋白趋于稳定，同时使 AtE2Fc 蛋白趋于降解（del Pozo *et al.*，2002；López-Juez *et al.*，2008），这种“激活型蛋白稳定-抑制型蛋白降解”的动态变化，可以精准调控 *AtE2Fe* 的表达水平及时序模式，参与拟南芥植物的光响应过程（Berckmans *et al.*，2011），这些研究为植物受到胁迫下 E2F/DP 家族成员的表达差异提供了一定的证据支撑。综上所述，本研究发现西瓜 ClE2F/DP 家族成员对瓜蚜取食呈现差异化表达模式，但 ClE2F/DP 家族参与调控西瓜抗蚜的关键基因以及作用机制等还需进一步验证。

参考文献 (References)

Berckmans B, Lammens T, Van Den Daele H, Magyar Z, Bögre L, De Veylder L, 2011. Light-dependent regulation of DEL1 is determined by the antagonistic action of E2Fb and E2Fc. *Plant Physiology*, 157(3): 1440–1451.

Boissot N, Thomas S, Sauvion N, Marchal C, Pavis C, Dogimont C, 2010. Mapping and validation of QTLs for resistance to aphids and whiteflies in melon. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(1): 9–20.

Boissot N, Chovelon V, Rittener-Ruff V, Giovinazzo N, Mistral P, Pitrat M, Charpentier M, Troadec C, Bendahmane A, Dogimont C, 2023. A highly diversified NLR cluster in melon contains homologs that confer powdery mildew and aphid resistance. *Horticulture Research*, 11(1): uhad256.

Chandran D, Rickert J, Huang Y, Steinwand MA, Marr SK, Wildermuth MC, 2014. Atypical E2F transcriptional repressor DEL1 acts at the intersection of plant growth and immunity by controlling the hormone salicylic acid. *Cell Host & Microbe*, 15(4): 506–513.

Chen MY, Liang DN, Chen XH, 2017. Research progress of cucurbit crops resistance to aphid. *Molecular Plant Breeding*, 15(9): 3803–3810. [陈敏炀, 梁郸娜, 陈学好, 2017. 瓜类作物抗蚜研究进展. 分子植物育种, 15(9): 3803–3810.]

Chen Q, Liang X, Wu CL, Liu Y, Xu XL, 2020. Genetic analysis of resistance of watermelon cultivars ‘heipi’ to *Aphis gossypii*. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 41(7): 1415–1419. [陈青, 梁晓, 伍春玲, 刘迎, 徐雪莲, 2020. 西瓜品种‘黑皮’对瓜蚜的抗性遗传分析. 热带作物学报, 41(7): 1415–1419.]

Divya D, Robin AHK, Cho LH, Kim D, Lee DJ, Kim CK, Chung MY, 2024. Genome-wide characterization and expression profiling of *E2F/DP* gene family members in response to abiotic stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *BMC Plant Biology*, 24(1):436.

del Pozo JC, Boniotti MB, Gutierrez C, 2002. Arabidopsis E2Fc functions in cell division and is degraded by the ubiquitin-SCF (AtSKP2) pathway in response to light. *Plant Cell*, 14(12): 3057–3071.

Gu J, Sohail H, Qiu L, Chen C, Yue H, Li Z, Yang X, Zhang L, 2024. Genome-wide characterization and expression analysis of CsPALs in cucumber (*Cucumis sativus* L.) reveal their potential roles in abiotic stress and aphid stress tolerance. *Plants*, 13(18): 2537.

Gao QY, Sun Y, Liu ZX, Pu JJ, Yang SY, Zhang H, 2023. Bioinformatics analysis of the E2F/DP transcription factor family in mango. *Molecular Plant Breeding*, 21(3): 772–781. [高

庆远, 孙宇, 刘志鑫, 蒲金基, 杨石有, 张贺, 2023. 杧果 E2F/DP 转录因子家族生物信息学分析. 分子植物育种, 21(3): 772–781.]

He J, Verstappen F, Jiao A, Dicke M, Bouwmeester HJ, Kappers IF, 2022. Terpene synthases in cucumber (*Cucumis sativus*) and their contribution to herbivore-induced volatile terpenoid emission. *New Phytologist*, 233(2): 862–877.

Huang HN, Yang XZ, Ma JX, Zhang Y, 2014. Research progress of watermelon genetic breeding in China. *Beijing Agriculture*, 2014(12): 22–26. [黄华宁, 杨小振, 马建祥, 张勇, 2014. 中国西瓜遗传育种研究进展. 北京农业, 2014(12): 22–26.]

Kosugi S, Ohashi Y, 2002. Interaction of the *Arabidopsis* E2F and DP proteins confers their concomitant nuclear translocation and transactivation. *Plant Physiology*, 128(3): 833–843.

Liang D, Liu M, Hu Q, He M, Qi X, Xu Q, Zhou F, Chen X, 2015. Identification of differentially expressed genes related to aphid resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Scientific Reports*, 5: 9645.

Liang D, Chen M, Qi X, Xu Q, Zhou F, Chen X, 2016. QTL mapping by SLAF-seq and expression analysis of candidate genes for aphid resistance in cucumber. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1000.

Liang DN, Hu QJ, Cao L, Song LL, Xu Q, Qi XH, Zhou FC, Chen XH, 2016. Effects of aphid (*Aphis gossypii* Glover) infestation on MDA content and protective enzymes activities in cucumber. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 32(2): 278–284. [梁郸娜, 胡其靖, 曹磊, 宋琳琳, 徐强, 齐晓花, 周福才, 陈学好, 2016. 蚜虫侵染对黄瓜叶片中丙二醛含量及保护酶活性的影响. 江苏农业学报, 32(2): 278–284.]

Liang X, Liao G, Li J, Fan W, Liu Y, Wang S, Chen L, Wang Y, Liu J, 2024. Exogenous ABA promotes resistance to *Sitobion avenae* (Fabricius) in rice seedlings. *Pest Management Science*, 80(7): 3389–3400.

Li Y, Fan H, Si Y, Guo Y, Wu Z, Du C, 2023. The phloem lectin PP2-A1 enhances aphid resistance by affecting aphid behavior and maintaining ROS homeostasis in cucumber plants. *International Journal of Biological Macromolecules*, 229: 432–442.

Li ZW, 2015. Identification and expression analysis of E2F/DP genes in *Medicago truncatula* under salt stress. Master dissertation. Harbin: Northeast Forestry University. [李紫薇, 2015. 蒺藜苜蓿 E2F/DP 基因鉴定及盐胁迫表达分析. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北林业大学.]

López-Juez E, Dillon E, Magyar Z, Khan S, Hazeldine S, de Jager SM, Murray JA, Beemster GT, Bögre L, Shanahan H, 2008. Distinct light-initiated gene expression and cell cycle programs in the shoot apex and cotyledons of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20(4): 947–968.

Luo LX, Gao T, Deng YN, Chai MY, Li B, Ni H, Wang K, Zhang MT, Liu YJ, Jiang H, Song CK, Jing TT, 2025. Tea aphid-induced β-elemene biosynthesis by CsELE enhances JA-dependent herbivore resistance in tea plants. *Plant*, *Cell & Environment*, 48(9): 6473–6489.

Magyar Z, Bögre L, Ito M, 2016. DREAMs make plant cells to cycle or to become quiescent. *Current Opinion in Plant Biology*, 34: 100–106.

Mariconti L, Pellegrini B, Cantoni R, Stevens R, Bergounioux C, Cella R, Albani D, 2002. The E2F family of transcription factors from *Arabidopsis thaliana*. Novel and conserved components of the retinoblastoma/E2F pathway in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 277(12): 9911–9919.

National Bureau of Statistics, 2022. National data. https://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01. [国家统计局, 2022. 国家数据. https://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01.]

Perrotta L, Giordo R, Francis D, Rogers HJ, Albani D, 2021. Molecular analysis of the E2F/DP gene family of *Daucus carota* and involvement of the DcE2F1 factor in cell proliferation. *Frontiers in Plant Science*, 12: 652570.

Ren J, Zhou FC, Chen XH, Hu QJ, Yang AM, Zhou JH, Shao JZ, Qian YY, 2014. Effect of physical characteristics of leaf on resistance of cucumber to *Aphis gossypii*. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 22(1): 52–57. [任佳, 周福才, 陈学好, 胡其靖, 杨爱民, 周建华, 邵久之, 钱媛媛, 2014. 黄瓜叶片物理性状对黄瓜抗蚜性的影响. 中国生态农业学报, 22(1): 52–57.]

Shi Y, Wang Y, Pan Y, Deng C, Zeng T, Su D, Lu W, Lin Y, Han J, Deng W, Wu S, Liu Y, Li N, Li J, Dong B, Abid G, Bouzayen M, Pirrello J, Li Z, Huang B, 2025. The SlGRAS9-SlMYC1 regulatory module controls glandular trichome formation and modulates resilience to pest in tomato. *Plant Journal*, 122(3): e70183.

Wang S, Gu YN, Zebell SG, Anderson LK, Wang W, Mohan R, Dong XN, 2014. A noncanonical role for the CKI-RB-E2F cell-cycle signaling pathway in plant effector-triggered immunity. *Cell Host & Microbe*, 16(6): 787–794.

Li YP, Zhu Y, Dong LL, Wen YZ, Lv XL, Fan HF, Du CX, 2025. Influence of phloem lectin CsPP2-A1 on aphid development via mediation of phenylpropanoid and flavonoid biosynthesis in cucumber. *Pest Management Science*, 81(8): 4647–4656.

Yang S, Xue S, Shan L, Fan S, Sun L, Dong Y, Li S, Gao Y, Qi Y, Yang L, An M, Wang F, Pang J, Zhang W, Weng Y, Liu X, Ren H, 2025. The CsTM alters multicellular trichome morphology and enhances resistance against aphid by interacting with

CsTIP1;1 in cucumber. *Journal of Advanced Research*, 69: 17–30.

Zhang Q, Zhou M, Wang J, 2022. Increasing the activities of protective enzymes is an important strategy to improve resistance in cucumber to powdery mildew disease and melon aphid under different infection/infestation patterns. *Frontiers in Plant Science*, 13: 1012345.

Zhang X, Wu MM, Yang XZ, Wang YQ, Liu LH, Li XL, 2017. Identification of aphid resistance and correlation with physical characters of leaf in watermelon seedlings. *Acta Horticulturae*, 1151: 259–266.

Zhang Y, Fu Y, Liu X, Francis F, Fan J, Liu H, Wang Q, Sun Y, Zhang Y, Chen J, 2023. SmCSP4 from aphid saliva stimulates salicylic acid-mediated defence responses in wheat by interacting with transcription factor TaWKRY76. *Plant Biotechnology Journal*, 21(11): 2389–2407.

Zhang Y, Zhang Y, Chen A, Huo R, Yan H, Zhang ZY, Guo HG, 2024. Callose deposition regulates differences in *Aphis gossypii* resistance among six watermelon varieties. *Journal of Pest Science*, 97(4): 2019–2034.

Zhou FC, Ren J, Chen XH, Yang AM, Hu QJ, Zhang JJ, He J, 2014. The effects of *Aphis gossypii* sucking on the antibiotic substances in cucumber leaves. *Journal of Yangzhou University* (*Agricultural and Life Science Edition*), 35(4): 99–103. [周福才, 任佳, 陈学好, 杨爱民, 胡其靖, 张建军, 何菁, 2014. 瓜蚜取食对黄瓜叶片中抗生物质的影响. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 35(4): 99–103.]

Zhu XG, Guo L, Zhu RQ, Zhou XY, Zhang JN, Li D, He SD, Qiao YL, 2023. *Phytophthora sojae* effector PsAvh113 associates with the soybean transcription factor GmDPB to inhibit catalase-mediated immunity. *Plant Biotechnology Journal*, 21(7): 1393–1407.

****

封面介绍

东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* (Meyen, 1835) 5 龄若虫

东亚飞蝗是我国蝗灾隐患最主要的虫种。由卵孵化到第 5 次蜕皮，是 5 龄若虫。东亚飞蝗 5 龄若虫体型较大，体色由黑色和棕黄色构成。前胸腹板平坦。中胸腹板中隔较长略大于宽。后足股节匀称，长为最大宽的 4 倍多。后足胫节内侧具刺 11-12 个，外侧具刺 11 个，缺外端刺。跗节爪间中垫略不到达爪之中部。翅芽较大，黑色。

该照片拍摄于中国科学院动物研究所王宪辉研究员实验室，材料（东亚飞蝗群居型，5 龄若虫）由郭思远副研究员、王思迈博士生提供。

（中国科学院动物研究所 姜春燕）