果 树 学 报 2026,43(10):2776-2787
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20260027

甜瓜*CmDMP*基因家族鉴定及表达模式分析

吕若涵[1,2],张春秋[2*]

([1]河北科技师范学院园艺科技学院•河北省特色园艺种质挖掘与创新利用重点实验室•河北省高校特色园艺植物生物育种应用技术研发中心,河北秦皇岛 066004;[2]北京市农林科学院蔬菜研究所•蔬菜生物育种全国重点实验室•国家蔬菜工程技术研究中心•作物分子设计与智慧育种北京市重点实验室•华北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室,北京 100097)

摘 要:【目的】鉴定甜瓜*DMP*(domain of unknown function 679 membrane protein)家族基因,分析其在不同组织中的表达模式,探究其与甜瓜单倍体诱导系创制的关联。**【方法】**基于甜瓜全基因组数据筛选获得*DMP*家族成员。利用生物信息学方法系统分析其蛋白理化性质、亚细胞定位、染色体分布、系统进化关系、蛋白保守基序和结构域、基因结构和启动子顺式作用元件。采用实时荧光定量PCR(RT-qPCR)技术,检测该家族基因在甜瓜不同组织中的表达模式。**【结果】**共鉴定到8个甜瓜*CmDMP*基因,分布于5条染色体上,编码蛋白主要定位于质膜、细胞质和细胞核,其启动子区含光响应、植物激素响应及非生物胁迫响应等相关元件。系统进化分析将甜瓜、拟南芥、西瓜、黄瓜的28个*DMP*基因分为4个亚族,各亚族均有甜瓜DMP成员分布。*CmDMP1*和*CmDMP7*在花粉中高表达,*CmDMP4*在根中特异性表达,*CmDMP5*和*CmDMP6*在雌花中的表达量显著高于其他组织。**【结论】**在甜瓜全基因组中鉴定到8个*CmDMP*家族基因,其中在花粉中特异性高表达的*CmDMP1*和*CmDMP7*是甜瓜单倍体诱导系创制的关键候选基因,为后续甜瓜*DMP*家族基因的功能验证及单倍体诱导机制研究奠定了理论基础。

关键词:甜瓜;*DMP*基因家族;全基因组鉴定;表达分析;单倍体诱导

中图分类号:S652 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2026)10-2776-12

Genome-wide identification and expression analysis of the *CmDMP* gene family in melon (*Cucumis melo* L.)

Lü Ruohan[1,2], Zhang Chunqiu[2*]

([1]College of Horticultural Science & Technology, Hebei Normal University of Science & Technology/Hebei Key Laboratory of Horticultural Germplasm Excavation and Innovative Utilization/Hebei Higher Institute Application Technology Research and Development Center of Horticultural Plant Biological Breed, Qinhuangdao 066004, Hebei, China; [2]Beijing Vegetables Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences/State Key Laboratory of Vegetable Biobreeding / National Engineering Research Center for Vegetables/Beijing Key Laboratory of Crop Molecular Design and Intelligent Breeding/Key Laboratory of Biology and Genetics Improvement of Horticultural Crops (North China), Beijing 100097, China)

Abstract:【Objective】The application of haploid induction represents an effective approach for shortening breeding cycles in crop improvement programs. In several economically important cereals including maize and rice, particular genes belonging to the *DMP* (Domain of Unknown Function 679 Membrane Protein) family have been established as critical genetic components for generating haploid inducer lines. Despite its agricultural significance, melon (*Cucumis melo* L.) lacks a comprehensive investigation into its DMP gene family. To address this knowledge gap, the present study aims to perform a genome-wide identification of *DMP* homologs in the melon genome. Following their discovery, we will use an integrated approach of bioinformatics and molecular biology to characterize the fundamental protein properties, phylogenetic linkages with orthologs from related species, and tissue-specific transcrip-

收稿日期:2026-01-20 **接受日期:**2026-03-13

基金项目:北京市农林科学院创新能力建设专项科技攻关项目(KJCX20251008);北京市农林科学院创新能力建设项目(KJCX20230221);国家自然科学基金面上项目(32072602);北京市农林科学院蔬菜研究所改革与发展项目(KYCX202301)

作者简介:吕若涵,女,在读硕士研究生,研究方向为甜瓜遗传育种。E-mail:shamingbuchong@sina.com

***通信作者** Author for correspondence. E-mail:zhangchunqiu@nercv.org

tion profiles of these genes. This multifaceted analysis seeks to elucidate the putative biological roles of the melon DMP family and establish a substantive basis for future functional studies.【Methods】The thick-skinned melon inbred line K7-2, characterized by robust growth and stable phenotypic traits, was employed as the experimental plant material. Comprehensive identification of *CmDMP* family members was performed through a genome-wide screening against the Melon (DHL92) v3.6.1 reference genome. Subsequently, the ExPASy online platform was employed to determine key physicochemical parameters of the encoded proteins, including amino acid count, molecular mass, theoretical isoelectric point, instability coefficient, hydrophobicity profile, and aliphatic index for each member; WoLFPSORT was employed for subcellular localization prediction; TBtools was used to generate gene chromosomal distribution maps; MEGA software was applied to construct a phylogenetic tree for evolutionary relationship analysis; MEME and InterPro databases were utilized to identify conserved motifs and domains, respectively; for the identification and categorization of cis-regulatory elements, the 2000-base pair region directly preceding the start codon was analyzed using the PlantCARE database. To clarify the gene expression patterns, root, stem, leaf, female flower, male flower tissues and pollen were collected separately. Total RNA was isolated with a commercial extraction kit and converted to complementary DNA (cDNA) following quality assessment. Gene-specific primers were constructed according to the coding sequences, and quantitative real-time PCR (RT-qPCR) amplification was carried out using the melon *Actin* gene for normalization. Each assay included three independent biological replicates, with four technical replicates per reaction. Relative expression levels were determined by the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Statistical analysis of inter-group differences was performed using one-way ANOVA, supplemented by Tukey's test for multiple comparisons.【Results】Eight *DMP* family members were identified from the melon genome and named *CmDMP1* to *CmDMP8* according to their positions on the chromosomes. The proteins encoded by these genes exhibited diversity in basic physicochemical properties: the amino acid length ranged from 69 to 222, the molecular weight ranged from 7.85−24.54 kDa, and the theoretical isoelectric point distributed from 5.38 to 10.86. Stability analysis showed that except for CmDMP6, the instability indices of the other members were all below 40, indicating that they are stable proteins. Most proteins showed hydrophobic properties, while only CmDMP2 had a negative average hydrophilicity index, showing hydrophilic properties. All proteins had relatively similar aliphatic indices. Prediction of subcellular localization indicated that seven family members were likely to reside predominantly in the plasma membrane, and 1 member existed in both the cytoplasm and nucleus. Phylogenetic analysis clustered 28 DMP family members from melon, *Arabidopsis thaliana*, watermelon and cucumber into 4 subfamilies, with DMP family members distributed in each subfamily, indicating that DMP family members retained good cross-species conservation during evolution. Further conserved motif analysis revealed that except for CmDMP2, the other members contained multiple core motifs, and the composition and arrangement of motifs within the same subfamily were highly conserved. All members contained the DUF679 domain, but CmDMP2 only contained a superfamily domain, which was different from other members. Gene structure analysis indicated that there were 1−3 exons among the members. Analysis of promoter cis-acting elements found that the promoter regions of all genes contained light-responsive elements. Meanwhile, a large number of elements related to hormone responses (especially methyl jasmonate and abscisic acid) and abiotic stress responses (especially anaerobic induction) were detected. RT-qPCR results identified two genes (*CmDMP1* and *CmDMP7)* highly expressed in melon pollen, which might play important roles in the development of melon haploid inducer lines; *CmDMP4* was specifically expressed in roots; the expression levels of *CmDMP5* and *CmDMP6* in female flowers

were significantly higher than those in other tissues; *CmDMP2*, *CmDMP3*, *CmDMP4* and *CmDMP6* showed almost no expression in pollen.【Conclusion】Eight *DMP* family genes were identified in melon in this study. These genes showed significant diversity in structure and physicochemical properties, retained cross-species conservation during evolution, and could respond to multiple hormone and abiotic stress signals. The results of tissue-specific expression indicated that *CmDMP1* and *CmDMP7* might be key genes for developing melon haploid inducer lines, while *CmDMP4*, *CmDMP5* and *CmDMP6* might regulate the growth and development of roots and female flowers, respectively. Subsequent studies can focus on the functional verification of *CmDMP1* and *CmDMP7* to explore their molecular pathways regulating melon haploid formation, providing theoretical support for understanding the mechanisms of melon reproductive development and haploid induction.

Key words: Melon; *DMP* gene family; Genome-wide identification; Expression analysis; Haploid induction

甜瓜（*Cucumis melo* L.）是重要且广泛栽培的全球性水果作物，其果实品质、抗逆性及产量的持续改良一直是育种学家关注的焦点。选育优良自交系是培育优质杂交种的前提和基础[1]，传统育种方法培育甜瓜自交系依赖于多代自交或回交以实现遗传纯合，过程繁琐、耗时漫长，还受到生长周期和季节限制。单倍体育种是一项关键的现代育种技术，其核心在于诱导产生单倍体植株并完成染色体加倍，进而快速创制遗传稳定的纯合材料[2-3]。该技术可以显著缩短育种周期、提高选择效率。因此，已成为当前育种实践中不可或缺的关键手段[4]。

在甜瓜中，自然产生单倍体的概率极低。因此，生产上通常采用花药或小孢子培养、未授精子房与胚珠培养、化学试剂处理以及辐射诱导等人工诱导单倍体[5]。然而，上述传统单倍体育种方法在实际应用中仍存在诸多困难，包括植株再生系统建立困难、花药离体培养效率低以及对基因型依赖性强等问题，限制了其大规模应用[6]。近年来，随着*CENH3*（Centromere-specific histone H3 variant）、*BBM*（BABY BOOM）、*MTL*（MATRILINEAL）/*PLA1A*（Phospholipase A1 member A/Zea mays Phospholipase A1）/*NLD*（NOT LIKE DAD）和*DMP*等单倍体诱导关键基因的陆续发现和基因编辑技术的发展，单倍体育种技术取得了关键性突破，也为该技术在甜瓜中的广泛应用奠定了坚实的理论与技术基础。具体而言，基于着丝粒介导的基因组消除技术，研究人员通过利用一种称为*CENH3*的着丝粒特异性组蛋白基因，成功创制出稳定的单倍体诱导系[7-10]。编辑卵细胞中表达的胚胎发育关键基因*BBM*，可诱导孤雌生殖并产生单倍体[11-12]。除此之外，失活花粉特异性表达的磷脂酶A超家族*MTL*基因，可导致精子细胞膜系统异常，进而在受精后引发父本染色体选择性消除，最终获得母系单倍体[13-15]。进一步研究发现，玉米花粉中特异性表达的磷脂酶D亚家族基因*ZmPLD3*的功能发生丧失型突变，能够用于创制单倍体诱导系，且该基因与*MTL/PLA/NLD*基因在单倍体诱导中存在协同增效作用。因此，使这些基因同时失活所获得的诱导效率，相较于单一基因突变有进一步提升[16]。此外，编码含有DUF679结构域的*DMP*基因家族在雄配子中发挥关键作用，是调控雌雄配子识别与融合的关键因子。*DMP*基因失活可破坏精子与卵细胞的正常融合过程[17]；目前，通过编辑*DMP*基因，已在玉米[18]、拟南芥[19]、番茄[20]、油菜[21]、烟草[22]、西瓜[23-24]、黄瓜[25]等多种作物中创制出单倍体诱导系，充分显示出*DMP*基因家族良好的跨物种保守性与较大的应用潜力。

近年来，*DMP*基因已成为双子叶作物中单倍体诱导研究与应用的热点靶标，并在多种植物中成功应用，然而*DMP*基因在甜瓜中的研究仍属空白[26]。基于甜瓜基因组数据，本研究全面鉴定了*CmDMP*基因家族成员，并系统解析了这些成员在理化性质、系统进化、染色体分布、保守基序、基因结构、启动子顺式作用元件和组织特异性表达等方面的特征，揭示甜瓜*DMP*家族成员结构和功能的多样性与复杂性，为甜瓜单倍体诱导系的创制提供关键候选基因，同时也为解析*CmDMP*基因在甜瓜生殖发育及单倍体诱导中的分子机制奠定基础。

1　材料和方法

1.1　甜瓜*DMP*基因家族成员的鉴定与筛选

本研究以拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）中已知的9个DMP家族成员氨基酸序列作为参考序列，相关序列来源TAIR数据库。首先，基于CuGenDB数据库，获取甜瓜、西瓜（*Citrullus lanatus*）和黄瓜（*Cucumis sativus*）的基因组数据用于后续分析。采用TBtools软件对甜瓜基因组进行blastp同源搜索，初步获得候选序列。同时，从Pfam数据库中获取DUF679结构域（*PF06911*）的隐马尔可夫模型文件，辅助识别保守结构域。在此基础上，进一步利用TBtools的BLAST功能，结合该模型对候选序列进行结构域验证与二次比对，从而准确鉴定甜瓜中的*DMP*家族基因。为探讨该家族在葫芦科植物中的进化关系，笔者依据相同流程，分别对西瓜和黄瓜基因组中的同源基因进行了并行鉴定与比较分析。

1.2　蛋白质理化性质与亚细胞定位预测

利用ExPASy在线平台的ProtParam工具计算甜瓜DMP蛋白的理论分子质量、等电点、不稳定指数及平均亲水性等基本理化参数。亚细胞定位预测则通过WoLF PSORT在线工具完成，该工具基于氨基酸序列特征评估其在细胞内的潜在分布位置。

1.3　系统进化分析与染色体定位

为阐明甜瓜DMP基因的系统进化关系，本研究获取了甜瓜、西瓜、黄瓜以及拟南芥4个物种的DMP蛋白序列，基于MEGA 11软件采用邻接法构建系统发育树，Bootstrap重复次数设置为1000次。同时，依据甜瓜基因组注释信息，利用TBtools工具确定各*CmDMP*基因在染色体上的具体位置，并进一步通过该软件生成染色体分布图进行可视化展示。

1.4　保守基序、结构域及基因结构分析

保守基序预测通过MEME在线平台完成，最大基序数目设定为10，其他参数保持默认。蛋白质保守结构域的鉴定使用InterPro数据库的扫描功能进行。基因结构（外显子−内含子组成）信息来源于基因组注释文件。保守基序的分布、结构域位置以及基因结构图示均通过TBtools软件进行统一整合与可视化呈现。

1.5　启动子顺式作用元件预测

将*CmDMP*基因翻译起始位点上游2000 bp区段作为启动子候选区域，利用PlantCARE在线数据库对该区段序列进行顺式作用元件的识别与注释。对鉴定出的元件按功能进行分类与统计，并借助TBtools软件对其类别、数量进行汇总分析，同时绘制相应的元件分布示意图以实现可视化展示。

1.6　蛋白质的二级结构和三级结构分析

通过SOPMA在线平台对甜瓜DMP蛋白的二级结构进行预测，包括α-螺旋、延伸链、β-转角及无规则卷曲等组成类型。同时，利用SWISS-MODEL同源建模平台构建甜瓜DMP蛋白的三级结构模型，该平台基于已知结构模板生成预测模型。

1.7　组织表达模式分析

选取饱满、大小均匀的K7-2甜瓜种子，经温汤浸种、催芽露白后，播种于草炭与蛭石等体积混合的育苗基质中，待植株生长至成株期，分别采集根、茎、叶、雌花、雄花组织及花粉。随后，提取各样品的总RNA，经反转录将其转化为cDNA模板，用于后续RT-qPCR分析。基于从CuGenDB数据库中获取的cDNA序列，使用Primer 5.0软件设计特异性引物，其扩增片段长度控制在150~300 bp之间（表1）。以*CmActin*作为内参基因[27]，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因

表1　本研究所用RT-qPCR引物序列

Table 1　Sequences of primers used for RT-qPCR in this study

基因名称 Gene name	正向引物序列 Forward primer sequence (5'−3')	反向引物序列 Reverse primer sequence (5'−3')
CmDMP1	GGTGGAGACGTGAAGGATATGG	TCAATTAGGCATACAGCCAATACC
CmDMP2	TTCCAATTCCTCAGTCCAAT	GCCCAAGGAAGAACGAGTAC
CmDMP3	CCACTGCAACTCCTTCAAC	TAAATGGATGGCACCGTCG
CmDMP4	GAGCCCGTCAACAAAGTCC	ATTGAATGGTACCGTCAGAGG
CmDMP5	CGTCGGTAACTTAATCCGTCT	GATTTGTTGATTGGTTCGCAG
CmDMP6	CGTTCATCCCATCGAGAGAT	GTTGAAATGCGAGGACAGTTC
CmDMP7	GTGTTCAAGACGGGGGTGAG	CGAGAAAGCAATCGCCATG
CmDMP8	ATGGAAGGCGAAATCGAGAG	GAGGCCATTGTTAAGGCATT
CmActin	TGCCCAGAAGTTCTATTCCAGC	CATAGTTGAACCACCACTGAGGAC

的相对表达量。为确保数据的可靠性与可重复性，共设置3次独立的生物学重复，且每次生物学重复包含4个技术平行。

1.8 数据分析

使用Excel 2007软件整理数据，借助GraphPad Prism软件进行统计分析。其中，采用单因素方差分析（One-Way ANOVA）处理数据，通过Tukey检验进行不同组别之间的比较。

2 结果与分析

2.1 甜瓜*DMP*家族成员的鉴定及其理化性质

在甜瓜基因组数据库中共检索出8个CmDMP家族蛋白序列，根据其染色体物理位置与顺序，统一命名为*CmDMP1*~*CmDMP8*（表2）。甜瓜DMP家族成员的蛋白氨基酸序列长度存在较大差异，氨基酸数目为69~222 aa，相对分子质量为7.85~24.54 kDa；等电点范围为5.38~10.86；不稳定指数为21.03~51.39，除CmDMP6以外，其余7个成员的不稳定系数均小于40，表明它们均属于性质稳定的蛋白质。亲水性分析结果显示，多数成员表现为疏水特性，其平均亲水指数（GRAVY）分布在−0.106~0.622之间，其中仅CmDMP2为亲水性蛋白。此外，所有成员蛋白的脂溶指数数值较为接近，变化范围为76.76~103.70。亚细胞定位预测则表明，7个成员可能位于质膜，另外1个成员同时定位于细胞质与细胞核。

表2 *CmDMP*基因基本信息与蛋白质理化性质

Table 2 Basic genetic information and protein attributes of *CmDMP* genes

基因名称 Gene name	基因编号 Gene ID	氨基酸数量 Number of amino acids/aa	分子质量 Molecular weight/kDa	理论等电点 Theoretical, pI	不稳定指数 Instability index	亲水性平均值 Grand average of hydropathicity	脂溶指数 Aliphatic index	亚细胞定位 Subcellular location
CmDMP1	MELO3C010247.2.1	216	23.99	6.38	23.70	0.144	79.35	质膜 Plasma membrane
CmDMP2	MELO3C008570.2.1	69	7.85	10.86	21.03	−0.106	101.74	细胞核 Nucleus 细胞质 Cytoplasm
CmDMP3	MELO3C006588.2.1	185	19.64	6.99	34.93	0.622	103.30	质膜 Plasma membrane
CmDMP4	MELO3C006589.2.1	188	20.12	6.88	34.11	0.585	102.50	质膜 Plasma membrane
CmDMP5	MELO3C006590.2.1	209	22.37	8.91	35.28	0.285	87.70	质膜 Plasma membrane
CmDMP6	MELO3C007258.2.1	212	23.44	5.38	51.39	0.234	94.29	质膜 Plasma membrane
CmDMP7	MELO3C023229.2.1	222	24.54	5.79	29.36	0.068	76.76	质膜 Plasma membrane
CmDMP8	MELO3C019333.2.1	219	24.05	8.77	35.39	0.346	103.70	质膜 Plasma membrane

2.2 甜瓜DMP基因家族的系统进化分析

基于DMP蛋白氨基酸序列构建的系统进化树显示，DMP基因家族可分为四个亚族，即DMP第Ⅰ亚族、第Ⅱ亚族、第Ⅲ亚族和第Ⅳ亚族（图1）。第Ⅰ亚族有7个成员，*CsDMP3*和*CmDMP7*聚类紧密，二者可能源于共同祖先且序列保守性较高；第Ⅱ亚族成员最多（11个），4个CmDMP成员属于该亚族；第Ⅲ亚族包含6个成员，CmDMP8与CsDMP5序列相似性高，属于跨物种高度保守的直系同源蛋白；第Ⅳ亚族成员数量最少，只有*CmDMP6*等4个成员。

2.3 甜瓜*DMP*基因的染色体定位

该家族的8个成员在甜瓜5条染色体上呈现非均匀分布（图2）。*CmDMP1*定位于2号染色体，*CmDMP2*定位于5号染色体，而6号染色体上集中分布着*CmDMP3*、*CmDMP4*和*CmDMP5*三个基因。此外，*CmDMP6*位于8号染色体，*CmDMP7*与*CmDMP8*则共同分布于11号染色体。

2.4 甜瓜DMP蛋白的保守性特征与基因结构分析

由图3-A可知，CmDMP家族分为2个主要分支：CmDMP2单独聚类为一支，其余7个成员聚为另一支，表明CmDMP2与其他成员的进化关系相对较远。CmDMP家族成员含有1~7个保守基序，除CmDMP2外，其余成员均含有基序2（motif 2）、基序3（motif 3）、基序4（motif 4）；系统发育聚类在同一亚族的成员，其基序类型及排列模式高度相似，而CmDMP2则与其他成员存在差异（图3-B），与系统发育聚类结果一致。CmDMP家族蛋白主要包含DUF679结构域及DUF679超家族结构域，其中CmDMP2仅含DUF679超家族结构域，其余成员均含有典型的DUF679核心结构域（图3-C），表明CmDMP2的蛋白结构域特征与家族其他成员存在分化。*CmDMPs*基因的外显子数目在1~3之间。其中，多个成员如*CmDMP2*、*CmDMP4*、*CmDMP7*和

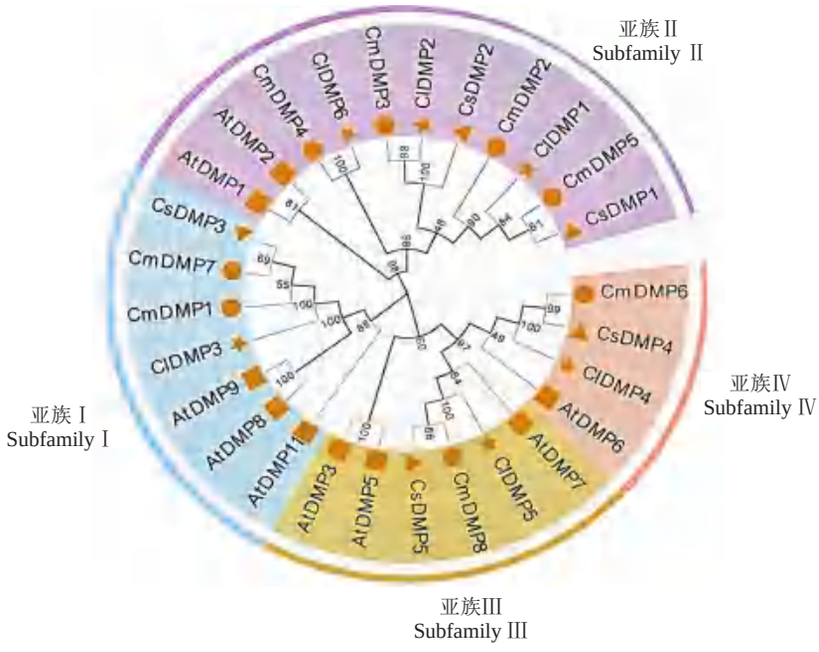


图 1　*DMP* 基因家族系统发育树

Fig. 1　Phylogenetic tree of *DMP* gene family

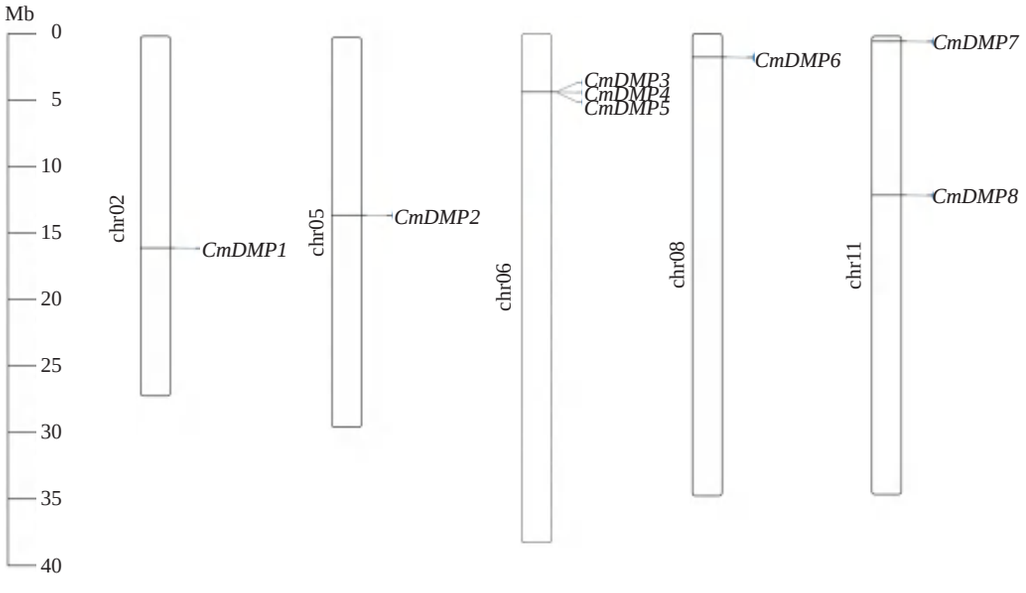


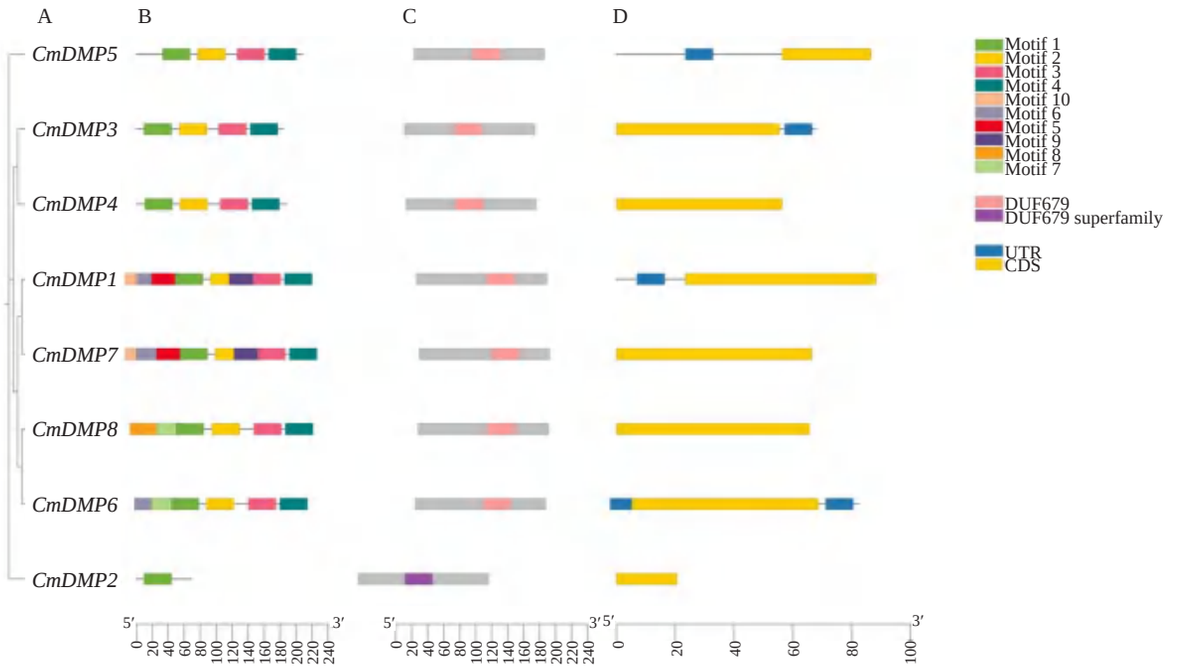
图 2　*DMP* 基因家族在甜瓜染色体上的定位

Fig. 2　Location of *DMP* gene family on the chromosomes of melon

CmDMP8 仅具有 1 个外显子；*CmDMP1*、*CmDMP3*、*CmDMP5* 及 *CmDMP6* 外显子则涵盖了 UTR 区域；*CmDMP6* 是该家族中唯一拥有 3 个外显子的成员（图 3-D）。属于同一亚族的基因，其外显子数目及 UTR 区域的分布表现出一致性。

2.5　甜瓜 DMP 蛋白的二级结构和三级结构

由表 3 可知，CmDMP 蛋白的二级结构主要由 α-螺旋、延伸链和不规则卷曲构成。在 CmDMP1、CmDMP2、CmDMP5、CmDMP6、CmDMP7 和 CmDMP8 的结构中，不规则卷曲的占比最高，其次是 α-螺旋，延伸链最低；而 CmDMP3 和 CmDMP4 则表现不同，以 α-螺旋为主，其次为不规则卷曲，延伸链最低。对比 CmDMP 家族蛋白的三级结构（图 4）可知，CmDMP3 和 CmDMP5 相似性较高，二者均以多组



A. 甜瓜 *DMP* 基因的系统发育分析；B. 保守基序；C. 蛋白的保守结构域；D. 基因结构。

A. Phylogenetic analysis of melon *DMP* genes; B. Conserved motif; C. Conserved domains of proteins; D. Gene structure.

图 3 甜瓜 DMP 蛋白保守基序、结构域及基因结构

Fig. 3 Protein conserved motifs, conserved domains of proteins and gene structure of CmDMP

表 3 CmDMP 蛋白的二级结构

Table 3 Secondary structure of CmDMP proteins %

蛋白名称 Protein name	α-螺旋 α-helix	延伸链 Extended strand	β-转角 β-turn	不规则卷曲 Random coil
CmDMP1	38.43	9.72	0	51.85
CmDMP2	33.33	20.29	0	46.38
CmDMP3	47.57	13.51	0	38.92
CmDMP4	44.15	13.83	0	42.02
CmDMP5	39.71	11.48	0	48.80
CmDMP6	40.57	11.79	0	47.64
CmDMP7	37.84	13.51	0	48.65
CmDMP8	38.81	10.05	0	51.14

α-螺旋为骨架，2段延伸链片段分别锚定在螺旋结构的不同区域，空间排布特征相似。CmDMP2的三级结构最为独特，其螺旋数量、折叠方式与其他成员存在明显区别。CmDMP蛋白的三级结构与二级结构预测基本相符。预测的模型全局质量评估值为0.44~0.85，反映模型准确性存在家族内差异。CmDMP3、CmDMP4、CmDMP5、CmDMP6和CmDMP8的评估值为0.73~0.85，表明其结构预测可靠性高，核心α-螺旋簇的折叠模式与真实结构一致性强；CmDMP2的评估值为0.44，整体折叠趋势合理但局部不规则卷曲区域可能存在偏差。

2.6 甜瓜 *DMP* 基因家族的启动子顺式作用元件

对 *CmDMP* 起始密码子上游2000 bp区域的启动子顺式作用元件进行分析预测，结果显示该启动子区域主要包含六类顺式作用元件（图5），分别为光响应元件（G-box、Box4等）、参与非生物胁迫应答的元件（LTR、ARE等）、与激素相关的元件（AuxRE、ABRE等）、涉及生长发育调控的元件（CRCE、CATB等）、MYB转录因子结合位点（MYBHv1 bs、MYB-LRE等）以及其他调控元件ATBP-1等。*CmDMP* 基因均含有光响应元件，同时还鉴定出42个植物激素响应元件，其中与茉莉酸甲酯（MeJA-RE）和脱落酸（ABRE）相关的顺式作用元件数量最多，为18个。非生物胁迫响应元件共有33个，其中厌氧诱导元件（ARE）数量最多（17个），广泛分布于除 *CmDMP1*、*CmDMP6* 外的6个基因中，其中 *CmDMP2*、*CmDMP3*、*CmDMP4*、*CmDMP7*、*CmDMP8* 均含有3个，表明 *CmDMP* 基因家族可能在甜瓜缺氧环境适应中具有调控功能。综上所述，*CmDMP* 基因家族启动子区域的顺式作用元件在种类和数目上表现出明显的差异性和特征性。这些元件以响应光照、脱落酸及厌氧诱导的功能位点为主，同时包含应答茉莉酸甲酯、干旱胁迫等其他类型元件，共同形成了调控甜瓜

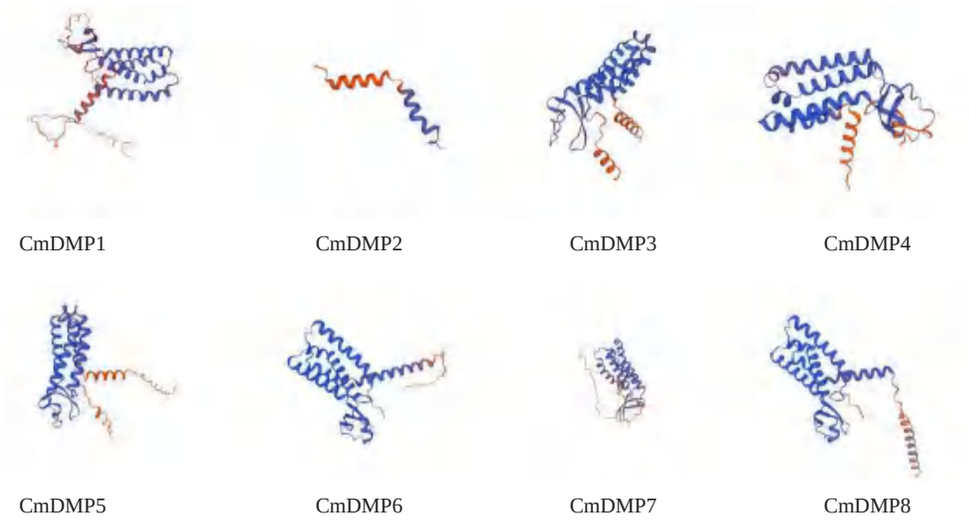


图 4　CmDMP 蛋白的三级结构

Fig. 4　Tertiary structure of CmDMP proteins

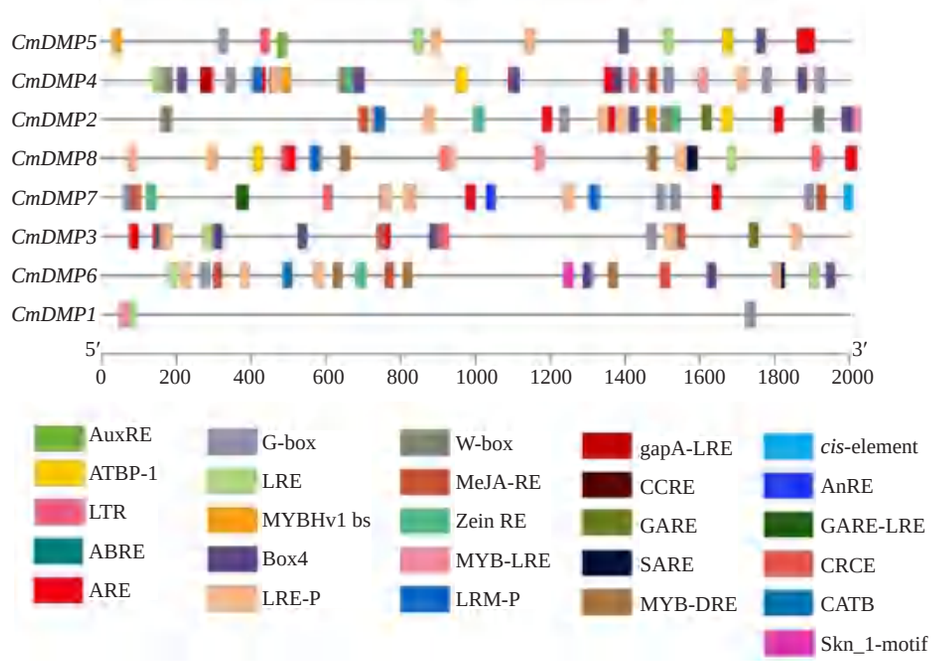


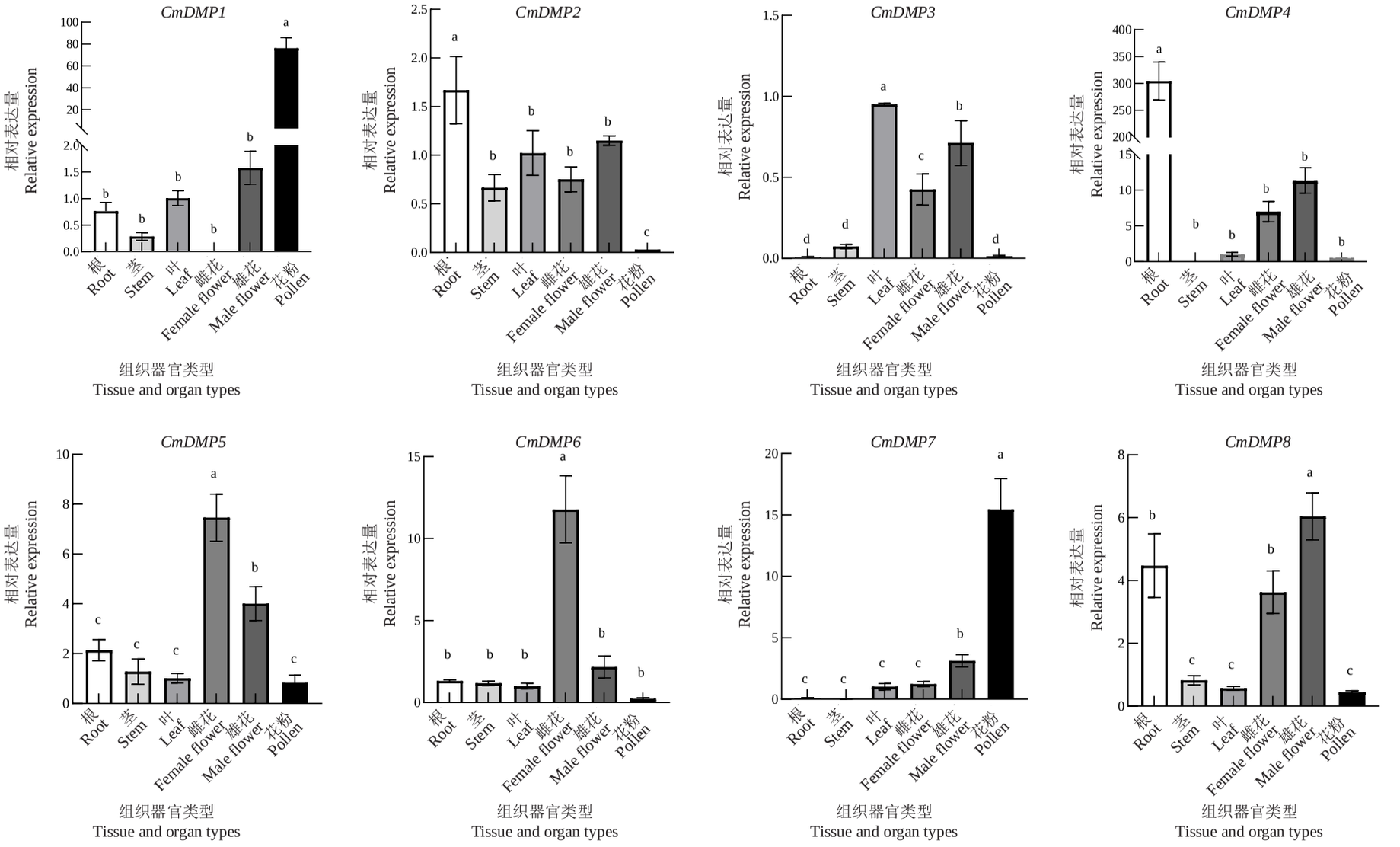
图 5　*CmDMP* 基因的顺式作用元件位点组

Fig. 5　*Cis*-acting element sites of *CmDMP* genes

生长发育、激素信号转导以及逆境适应过程的分子基础。

2.7　甜瓜 *DMP* 基因家族在各组织部位中的表达分析

利用实时荧光定量 RT-qPCR 对 *CmDMP* 基因家族在甜瓜不同组织部位表达情况进行分析，结果（图 6）显示 *CmDMP1* 在花粉中特异性表达，*CmDMP7* 与 *CmDMP1* 表达模式相似，也在花粉中高量表达，暗示两者可能在植物花粉发育的特定阶段发挥关键作用；*CmDMP2* 在根中的表达量显著高于其他组织器官，在茎、叶、雌花、雄花中的表达量无显著差异；*CmDMP3* 在叶片中的表达量相对较高，在其他组织中有不同水平的表达；*CmDMP4* 具有极强的组织特异性，主要在根部表达；*CmDMP5* 在雌花中表达量最高，雄花次之，在根、茎、叶和花粉中的表达水平相近；*CmDMP6* 在雌花中的表达量显著高



不同小写字母代表不同组织间的表达量差异显著（$P<0.05$）。

Different small letters represent significant differences in expression levels among different tissues ($P< 0.05$).

图 6　不同组织中甜瓜 *DMP* 基因家族成员的相对表达量

Fig. 6　Analysis of melon *DMP* gene relative expression across various tissues

于其他组织，在根、茎、叶和雄花中的表达量无显著差异；*CmDMP8*在雄花中表达量相对较高，在根和雌花中的表达量无显著差异，在茎、叶和花粉中的表达量相似；此外，*CmDMP2*、*CmDMP3*、*CmDMP4*及*CmDMP6*基因在花粉中几乎不表达。

3　讨　论

DMP蛋白主要分布在绿色植物体内，属于膜结合蛋白，目前已在多个物种中对其进行了鉴定。通过对甜瓜全基因组进行分析，共鉴定出8个*DMP*家族成员，非均匀地分布于5条染色体上，其中6号和11号染色体存在明显的基因聚集现象，推测该分布模式可能源于进化历史上的基因复制事件[15]。基因功能的加倍、特化以及多样化往往与串联复制、全基因组复制或片段复制密切相关，这类复制事件还有可能导致基因功能出现冗余现象[28-30]。系统进化分析进一步表明，该基因家族在单子叶与双子叶植物分化之前，可能源自一个共同的祖先基因。随着植物的系统进化，该家族在不同亚族中逐渐形成了分别倾向于单子叶类群或双子叶类群的聚类特征，这与前人研究结果一致[31]。保守基序分析表明，基序1存在于所有CmDMP蛋白中，而其他基序则仅出现于特定成员中。这些独特的基序构成，被认为是促使CmDMP蛋白功能产生分化的重要影响因素[15,31]。多数CmDMPs成员均具有DUF679核心结构域。研究证实DUF679核心结构域及跨膜区域的完整性是实现单倍体诱导功能的关键，ZmDMP和AtDMP8/9蛋白跨膜结构域的突变获得了具有单倍体诱导能力的突变体[18-19]。

*CmDMPs*基因启动子区域顺式作用元件的分析，有助于揭示其转录调控机制，从而为该基因可能参与的生物学过程提供推断依据。*CmDMP*基因家族启动子区域富集了多种功能元件。所有成员启动子中均含有3~18个光响应相关顺式作用元件，表明该家族受光信号调控。各成员对光信号的响应强度与模式可能不同，进而介导了不同的光调控生物学过程[29]。进一步分析显示，*CmDMP*基因家族启动子区域富含多种顺式调控元件，包括响应脱落酸与茉莉酸甲酯等植物激素的元件、应答厌氧及干旱等非生物胁迫的元件，以及与胚乳表达、分生组织活动相关的生长发育调控元件[31-32]。上述结果表明，*CmDMP*基因可能广泛参与调控甜瓜的生长发育及对逆境胁迫的适应过程。

基因在不同组织中的表达特征可以初步反映其功能。组织特异性表达分析表明，*CmDMP1*与*CmDMP7*在花粉组织中显示出较高的表达水平，与进化分析中相同亚族的*AtDMP8*、*AtDMP9*、*ClDMP3*（Cla97C06G121370）和*CsDMP3*（CsaV3_1G028660）基因的表达模式高度相似。研究表明，花粉中高表达的*DMP*基因失活后会干扰受精过程，从而获得具有单倍体诱导功能的突变体，*AtDMP8/9*、*ClDMP3*和*CsDMP3*基因的失活均获得了单倍体诱导系[19,23-25]。在甘薯的研究中同样发现，*IbDMP5*被鉴定为潜在的诱导单倍体基因，这些跨物种的研究结果进一步支持花粉中高表达的DMP成员在诱导单倍体方面具有潜在功能[33]。结合*CmDMP1*和*CmDMP7*的功能结构域，以及葫芦科近缘物种同源基因的功能验证等结果，推测*CmDMP1*和*CmDMP7*基因可能参与甜瓜的授粉和受精过程，通过*CmDMP1*、*CmDMP7*基因的失活有望获得甜瓜单倍体诱导系材料。目前，单倍体育种已取得重要进展，通过远缘杂交成功创制了双单倍体，基于辐射花粉诱导单性生殖的单倍体高效再生体系已建立[34-35]。然而，基于*DMP*基因的甜瓜单倍体诱导系尚未见报道，这为后续研究提供了重要方向。此外，*CmDMPs*的表达分析进一步揭示了*DMP*家族成员的组织表达模式与潜在功能分化。*CmDMP2*与*CmDMP4*在根中的表达量极高，推测两者可能在甜瓜根系的生长、发育或环境信号响应中发挥功能；*CmDMP5*与*CmDMP6*在雌花中表达量最高，推测可能参与雌花的发育过程[19]。

4　结　论

在甜瓜基因组中共鉴定出8个*CmDMP*成员，不均匀分布于5条染色体上；*CmDMP*成员可分为4个亚族。启动子区域富含响应光照、激素以及非生物胁迫的顺式作用元件。*CmDMP1*和*CmDMP7*基因在花粉中高量表达，可能是创制甜瓜单倍体诱导系的靶标基因。

参考文献 References：

[1]　胡俏强，谢本寿，潘玖琴，吉善良，黄少华，戴惠学 . 浅述优良鲜食甜玉米自交系的选育及杂交种组配方法[J]. 农业科技通讯，2022(10)：163-166.
Hu Qiaoqiang，Xie Benshou，Pan Jiuqin，Ji Shanliang，Huang

Shaohua，Dai Huixue. Brief discussion on breeding of excellent fresh sweet corn inbred lines and hybrid combination method[J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology，2022(10)：163-166.

[2] Yali W. Haploids and doubled haploid technology application in modern plant breeding[J]. Journal of Plant Sciences，2022，10(2)：71.

[3] Yong H J，Zhang F Y，Tang J，Yang Z Y，Zhao X Z，Li M S，Zhang D G，Hao Z F，Weng J F，Li X H. Breeding potential of inbred lines derived from five maize (*Zea mays* L.) populations[J]. Euphytica，2018，215(1)：1.

[4] Palanisamy D，Marappan S，Ponnuswamy R D，Mahalingam P S，Bohar R，Vaidyanathan S. Accelerating hybrid rice breeding through the adoption of doubled haploid technology for R-line development[J]. Biologia，2019，74(10)：1259-1269.

[5] 董彦琪，刘喜存，王文英 . 瓜类作物离体雄核发育和离体雌核发育单倍体育种技术研究进展[J]. 中国瓜菜，2014，27(增刊1)：9-16.
Dong Yanqi，Liu Xicun，Wang Wenying. Research progress on *in vitro* androgenesis and gynogenesis haploid breeding techniques in cucurbit crops[J]. China Cucurbits and Vegetables，2014，27(S1)：9-16.

[6] 周霞，邓英，陈劲枫 . 瓜类作物离体雌核诱导单倍体研究进展[J]. 园艺学报，2020，47(9)：1810-1826.
Zhou Xia，Deng Ying，Chen Jinfeng. Research progress on haploid induction of cucurbitaceous crops based on *in vitro* gynogenesis[J]. Acta Horticulturae Sinica，2020，47(9)：1810-1826.

[7] Ravi M，Chan S W L. Haploid plants produced by centromere-mediated genome elimination[J]. Nature，2010，464(7288)：615-618.

[8] Kelliher T，Starr D，Wang W L，McCuiston J，Zhong H，Nuccio M L，Martin B. Maternal haploids are preferentially induced by *CENH3-tailswap* transgenic complementation in maize[J]. Frontiers in Plant Science，2016，7：414.

[9] Lv J，Yu K，Wei J，Gui H P，Liu C X，Liang D W，Wang Y L，Zhou H J，Carlin R，Rich R，Lu T C，Que Q D，Wang W C，Zhang X P，Kelliher T. Generation of paternal haploids in wheat by genome editing of the centromeric histone *CENH3*[J]. Nature Biotechnology，2020，38(12)：1397-1401.

[10] Sun G L，Geng S F，Zhang H J，Jia M L，Wang Z Y，Deng Z Y，Tao S，Liao R Y，Wang F，Kong X C，Fu M X，Liu S S，Li A L，Mao L. *Matrilineal* empowers wheat pollen with haploid induction potency by triggering postmitosis reactive oxygen species activity[J]. New Phytologist，2022，233(6)：2405-2414.

[11] Conner J A，Mookkan M，Huo H Q，Chae K，Ozias-Akins P. A parthenogenesis gene of apomict origin elicits embryo formation from unfertilized eggs in a sexual plant[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America，2015，112(36)：11205-11210.

[12] Khanday I，Skinner D，Yang B，Mercier R，Sundaresan V. A male-expressed rice embryogenic trigger redirected for asexual propagation through seeds[J]. Nature，2019，565(7737)：91-95.

[13] Kelliher T，Starr D，Richbourg L，Chintamanani S，Delzer B，Nuccio M L，Green J，Chen Z Y，McCuiston J，Wang W L，Liebler T，Bullock P，Martin B. MATRILINEAL，a sperm-specific phospholipase，triggers maize haploid induction[J]. Nature，2017，542(7639)：105-109.

[14] Wang C，Liu Q，Shen Y，Hua Y F，Wang J J，Lin J R，Wu M G，Sun T T，Cheng Z K，Mercier R，Wang K J. Clonal seeds from hybrid rice by simultaneous genome engineering of meiosis and fertilization genes[J]. Nature Biotechnology，2019，37(3)：283-286.

[15] Zhu S H，Wang X Y，Chen W，Yao J B，Li Y，Fang S T，Lv Y J，Li X X，Pan J W，Liu C Y，Li Q L，Zhang Y S. Cotton *DMP* gene family：Characterization，evolution，and expression profiles during development and stress[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2021，183：1257-1269.

[16] Li Y，Lin Z，Yue Y，Zhao H M，Fei X H，E L Z，Liu C X，Chen S J，Lai J S，Song W B. Loss-of-function alleles of ZmPLD3 cause haploid induction in maize[J]. Nature Plants，2021，7(12)：1579-1588.

[17] Kasaras A，Melzer M，Kunze R. *Arabidopsis* senescence-associated protein DMP1 is involved in membrane remodeling of the ER and tonoplast[J]. BMC Plant Biology，2012，12(1)：54.

[18] Zhong Y，Liu C X，Qi X L，Jiao Y Y，Wang D，Wang Y W，Liu Z K，Chen C，Chen B J，Tian X L，Li J L，Chen M，Dong X，Xu X W，Li L，Li W，Liu W X，Jin W W，Lai J S，Chen S J. Mutation of ZmDMP enhances haploid induction in maize[J]. Nature Plants，2019，5(6)：575-580.

[19] Zhong Y，Chen B J，Li M R，Wang D，Jiao Y Y，Qi X L，Wang M，Liu Z K，Chen C，Wang Y W，Chen M，Li J L，Xiao Z J，Cheng D H，Liu W X，Boutilier K，Liu C X，Chen S J. A DMP-triggered *in vivo* maternal haploid induction system in the dicotyledonous *Arabidopsis*[J]. Nature Plants，2020，6(5)：466-472.

[20] Zhong Y，Chen B J，Wang D，Zhu X J，Li M R，Zhang J Z，Chen M，Wang M，Riksen T，Liu J C，Qi X L，Wang Y W，Cheng D H，Liu Z K，Li J L，Chen C，Jiao Y Y，Liu W X，Huang S W，Liu C X，Boutilier K，Chen S J. *In vivo* maternal haploid induction in tomato[J]. Plant Biotechnology Journal，2022，20(2)：250-252.

[21] Zhong Y，Wang Y W，Chen B J，Liu J C，Wang D，Li M R，Qi X L，Liu C X，Boutilier K，Chen S J. Establishment of a *dmp* based maternal haploid induction system for polyploid *Brassica napus* and *Nicotiana tabacum*[J]. Journal of Integrative Plant Biology，2022，64(6)：1281-1294.

[22] Lu X L，Wu H Q，Zhang Q，Sun W，Chen X，Wu X T，Chen Y F. Induction of pollen embryo and chromosome doubling in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)[J]. Turkish Journal of Botany，2020，44(1)：76-84.

[23] Chen X E，Li Y X，Ai G L，Chen J F，Guo D L，Zhu Z H，Zhu X J，Tian S J，Wang J F，Liu M，Yuan L. Creation of a watermelon

haploid inducer line *via ClDMP3*-mediated single fertilization of the central cell[J]. Horticulture Research，2023，10(6)：uhad081.

[24] Tian S W，Zhang J，Zhao H，Zong M，Li M Y，Gong G Y，Ren Y，Zhang H Y，Li S F，Wen C L，Xu Y. Production of double haploid watermelon via maternal haploid induction[J]. Plant Biotechnology Journal，2023，21(6): 1308-1310.

[25] Yin S，Li S，Sun L，Shi K X，Fan S S，Liu X W，Ren H Z. Mutating the maternal haploid inducer gene *CsDMP* in cucumber produces haploids in planta[J]. Plant Physiology，2024，194(3)：1282-1285.

[26] 刘龙，陈笑，王义，冯献忠 . 农作物单倍体诱导技术研究进展[J/OL]. 分子植物育种，2022：1-11(2022-07-14). https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20220714.1134.008.
Liu Long，Chen Xiao，Wang Yi，Feng Xianzhong. Research progress on haploid induction technology of crops[J/OL]. Molecular Plant Breeding，2022：1-11(2022-07-14). https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20220714.1134.008.

[27] 章丽珍，韩晓云，吴菁华，Wangpruski G，张志忠 . 甜瓜实时荧光定量 PCR 分析中内参基因的筛选[J]. 福建农业学报，2020，35(11)：1179-1187.
Zhang Lizhen，Han Xiaoyun，Wu Jinghua，Wangpruski G，Zhang Zhizhong. Reference gene selection for RT-qPCR analysis on *Cucumis melo*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences，2020，35(11)：1179-1187.

[28] 王新华，许娜丽，姚明明，余慧霞，王彦青，邱国岩，刘凤楼，刘彩霞，张晓岗，李清峰，王掌军 . 长穗偃麦草 LBD 基因家族的鉴定与进化分析[J]. 西北农业学报，2022，31(2)：202-216.
Wang Xinhua，Xu Nali，Yao Mingming，Yu Huixia，Wang Yanqing，Qiu Guoyan，Liu Fenglou，Liu Caixia，Zhang Xiaogang，Li Qingfeng，Wang Zhangjun. Identification and evolution analysis of LBD gene family in *Thinopyrum elongatum*[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica，2022，31(2)：202-216.

[29] Ren R，Wang H F，Guo C C，Zhang N，Zeng L P，Chen Y M，Ma H，Qi J. Widespread whole genome duplications contribute to genome complexity and species diversity in angiosperms[J]. Molecular Plant，2018，11(3)：414-428.

[30] Soltis P S，Soltis D E. Ancient WGD events as drivers of key innovations in angiosperms[J]. Current Opinion in Plant Biology，2016，30：159-165.

[31] 李雯，赵丽蓉，张建平，刘自刚，齐燕妮，李闻娟，谢亚萍 . 亚麻 DMP 基因家族的全基因组鉴定与分析[J]. 草业学报，2023，32(3)：91-106.
Li Wen，Zhao Lirong，Zhang Jianping，Liu Zigang，Qi Yanni，Li Wenjuan，Xie Yaping. Genome-wide identification and analysis of the DMP gene family in flax (*Linum usitatissimum*)[J]. Acta Prataculturae Sinica，2023，32(3)：91-106.

[32] Li Y F，Chen C Y，Kaye A M，Wasserman W W. The identification of *cis*-regulatory elements：A review from a machine learning perspective[J]. BioSystems，2015，138：6-17.

[33] Pan Z Y，Li Z Y，Han Y H，Sun J. Genome-wide identification and expression analysis of the *DMP* and *MTL* genes in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.)[J]. Genes，2024，15(3)：354.

[34] 毕研胜，郑莉娜，张璐，王瑜晖，钱春桃 . 甜瓜自交系 BPC-4 双单倍体的创制、鉴定及基因组变化[J]. 南京农业大学学报，2023，46(6)：1040-1050.
Bi Yansheng，Zheng Lina，Zhang Lu，Wang Yuhui，Qian Chuntao. Creation，identification and genomic changes of double haploid of melon BPC-4[J]. Journal of Nanjing Agricultural University，2023，46(6)：1040-1050.

[35] 黄耀，颜乐龙，钱春桃 . 辐射花粉授粉诱导甜瓜单倍体研究[J]. 现代农业科技，2024(10)：159-163.
Huang Yao，Yan Lelong，Qian Chuntao. Research on induction of haploid melon by radiation pollen pollination[J]. Modern Agricultural Science and Technology，2024(10)：159-163.