山东农业大学学报(自然科学版),2026,57(5):932-942 VOL.57 NO.5 2026
Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition) doi:10.3969/j.issn.1000-2324.2026.05.013

黄瓜*CsTON1*基因的鉴定及分析

王雪华[1],王丹丹[1],曹守军[2],徐华欣[1],常婧姝[1],赵黎丽[1],任仲海[1*],王丽娜[1*]

1. 山东农业大学园艺科学与工程学院,山东省果蔬种质创新与利用重点实验室,
农业部黄淮地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室,山东 泰安 271018
2. 山东省烟台市农业科学研究院,山东 烟台 265500

摘 要: 黄瓜作为一种全球范围内广泛栽培的蔬菜作物,不仅在饮食领域占据重要地位,其独特的生长特性和丰富的营养价值也使它成为农业研究的热点之一。TON1(TONNEAU1)是一种关键的细胞骨架结合蛋白,在植物细胞分裂平面确定、形态建成及器官大小形状调控中发挥核心作用,但其在黄瓜中的同源基因*CsTON1*的功能尚属未知。本研究对黄瓜*CsTON1*基因进行了鉴定与分析,结果显示,黄瓜中仅存在一个*CsTON1*基因,定位于5号染色体上,基因全长为6 989 bp,其CDS区域长度为798 bp,基因结构包含8个外显子。CsTON1蛋白由265个氨基酸残基组成,其分子量约为29.7 kDa。通过生物信息学分析,发现CsTON1蛋白结构不稳定,具有多个磷酸化修饰位点,并且在二级结构组成中,无规则卷曲占据主要比例。系统进化树和多序列比对表明,CsTON1与冬瓜BhTON1的亲缘关系最近,与小立碗藓PpTON1的亲缘关系最远。CsTON1高度保守,含有M1-M8保守基序和TOF、LisH、PLL三个保守结构域。RNA-seq分析和qRT-PCR结果显示,*CsTON1*在黄瓜各组织中均有表达且在果实中的表达量最高。此外,*CsTON1*可响应盐胁迫和高温胁迫,同时也响应白粉病原菌和霜霉病菌的侵染。该研究结果为后续开展*CsTON1*基因在黄瓜中的功能解析提供参考依据。

关键词: 黄瓜;*TON1*基因;生物信息学分析;非生物胁迫;生物胁迫

中图法分类号: S642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-2324(2026)05-0932-11

Identification and Analysis of Cucumber *CsTON1* Gene

WANG Xue-hua[1], WANG Dan-dan[1], CAO Shou-jun[2], XU Hua-xin[1],
CHANG Jing-shu[1], ZHAO Li-li[1], REN Zhong-hai[1*], WANG Li-na[1*]

1. *College of Horticulture Science and Engineering/Shandong Agricultural University, Shandong Key Laboratory of Fruit and Vegetable Germplasm Innovation and Utilization, Key Laboratory of Biology and Germplasm Enhancement of Horticultural Crops in Huang huai Region/Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tai'an 271018,China*
2. *Shandong Yantai Academy of Agricultural Sciences, Yantai 265500,China*

Abstract: Cucumber, as a widely cultivated vegetable crop globally, holds an important position not only in the field of diet but also becomes one of the hotspots in agricultural research due to its unique growth characteristics and rich nutritional value. TON1 (TONNEAU1) is a critical cytoskeleton-associated protein that plays a central role in determining the cell division plane, morphogenesis, and regulating the organ size and shape. However, the function of its homolog, *CsTON1* in cucumber remains largely unknown. This study This study identifies and analyzes the cucumber CsTON1 gene, revealing that there is only one CsTON1 gene in cucumber, located on chromosome 5; the gene possesses a genomic sequence of 6 989 bp, with a coding sequence (CDS) of 798 bp that is organized into 8 exons. The CsTON1 protein is composed of 265 amino acid residues with a molecular weight of approximately 29.7 kDa. Bioinformatics analysis reveals that the CsTON1 protein has an unstable structure, contains multiple phosphorylation sites, and random coils dominate its secondary structure. Phylogenetic tree and multiple sequence alignment analyses indicate that CsTON1 is most closely related to BhTON1 from Benincasa hispida and most distantly related to PpTON1 from Physcomitrella patens. CsTON1 is highly conserved, harboring eight conserved motifs (M1-M8) and three conserved domains, namely TOF, LisH, and PLL. RNA-seq and qRT-PCR results demonstrate that *CsTON1* is ubiquitously expressed in all cucumber tissues, with the highest expression level in the fruit. Furthermore, *CsTON1* responds to salt stress and high temperature stress, as well as infections by

收稿日期: 2025-11-23 **修回日期:** 2026-09-15

基金项目: 山东省重点研发计划(农业良种工程)项目(2022LZGCQY001);国家自然科学基金(31972419;31672170);山东"双一流"专项建设基金(SYL2017YSTD06);山东省泰山学者建设工程(ts20130932);山东省重点研发计划(竞争性创新平台)项目(2025CXPT170)

第1作者简介: 王雪华(2000-),女,硕士研究生,研究方向:蔬菜遗传育种。E-mail:2022110315@sdau.edu.cn

***通讯作者:** Author for correspondence. E-mail: lnwang @sdau.edu.cn; zhren@sdau.edu.cn

powdery mildew and downy mildew pathogens. The findings of this study provide a reference basis for further functional analysis of the CsTON1 gene in cucumber.

Keywords: Cucumber; *TON1 gene*; bioinformatics analysis; abiotic stress; biotic stress

黄瓜（*Cucumis sativus* L.）作为全球重要的蔬菜作物，在世界各地被广泛种植。根据联合国粮农组织2023年统计数据，中国黄瓜的种植面积为132.86万 hm^2，约占全球总面积的60.55%；年产量为8023.70万 t，占全球总产量的82.06%。此外，黄瓜种质资源丰富，在农业生产与科学研究中具有重要价值。

TON1（TONNEAU1）是一种参与植物细胞周期调控的细胞骨架结合蛋白[1]，参与分裂前期带PPB（Preprophase Band）的形成、植物细胞骨架微管MT（Microtubule）的排列和定位[2]，对确定细胞分裂平面、促进细胞分裂和形态建成具有重要作用[3]。拟南芥 *Atton1* 突变体的细胞在间期皮层细胞骨架结构异常，细胞大小、形状和排列发生显著变化，且无法形成PPB，导致植株形态发生改变，如幼苗粗壮、矮小，花序发育受限，植株整体短粗等，但器官的数量和相对位置不会改变[4]。进一步研究表明，拟南芥TON1与微管相关蛋白TRM（TONNEAU1 Recruiting Motif）的M2结构域发生相互作用，同时结合蛋白磷酸酶PP2A（Protein Phosphatase 2A）形成TTP（TON1-TRM-PP2A）复合物。该复合物靶向作用于微管，通过调控微管的空间排布及PPB的形成，进而影响细胞分裂和生长，最终实现对器官大小和形状的调控[5-9]。在水稻中，OsGL7/GW7（Grain Length 7/Grain Width7）通过M2和M3基序与TON1和PP2A相互作用，形成TTP复合体，调控籽粒大小。过表达 *OsGW7* 能够使谷物变得更细长，而DEP1（Dense And Erect Panicle1）的加入会阻断或削弱TTP复合物组分之间的相互作用，从而抑制TTP复合物的功能导致谷物纵向伸长减少，籽粒变得短圆[10-12]。在玉米中，ZmTON1与ZmLNG1相互作用，参与调控器官形状。玉米 *ZmLNG1* 过表达则会导致叶片、穗和籽粒呈细长表型。分子机制上，ZmLNG1作为分子桥梁促进OFPs（Ovate family proteins）与ZmTON1蛋白互作，进而调控OFPs的磷酸化状态。这些结果提示，由ZmLNG1介导的TTP蛋白复合体通过去磷酸化作用来调控植物细胞与器官的形态建成，而OFPs可能是该复合体发挥去磷酸化作用的底物之一[13]。

目前关于TON1的研究大多集中于模式植物，黄瓜 *CsTON1* 基因尚未有研究报道，其具体功能仍不明确。为解析黄瓜 *CsTON1* 的功能，本研究利用生物信息学技术，对黄瓜 *CsTON1* 进行了初步鉴定，并对其蛋白结构、理化性质、系统进化关系、组织表达特性以及该基因对生物与非生物胁迫的响应模式进行了初步分析。该研究成果将为黄瓜后续功能基因组学研究提供候选基因和线索。

1　材料与方法

1.1　试验材料

CsTRM5-NIL：本实验室利用两个果形差异极大的长果自交系CNS21（果形指数约为10）和圆果自交系RNS7（果形指数约为1）为材料[14]，获得 *CsTRM5* 近等基因系（*CsTRM5* Near Isogenic Line，*CsTRM5*-NIL），其果形指数约为2[15-17]。

1.2　黄瓜 *CsTON1* 基因鉴定及理化性质分析

从拟南芥基因组网站（https://www.arabidopsis.org/）下载AtTON1a和AtTON1b蛋白序列fasta文件，利用葫芦科基因组数据库网站（http://Cucurbit Genomics Database（CuGenDB））进行BLAST比对，鉴定出黄瓜 *CsTON1* 基因。使用GSDS 2.0在线工具（https://gsds.gao-lab.org/index.php）分析其基因结构。从数据库获取CsTON1氨基酸序列的fasta文件，并提交至在线检测网站ProtParam（https://web.expasy.org/protparam/）以分析其理化性质。

1.3　构建TON1系统进化树

以拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）的AtTON1蛋白序列作为参考，采用BLAST比对方法，在小立碗藓、银杏、水稻、玉米、小麦、番茄、大白菜、黄瓜、甜瓜、西瓜、苦瓜、冬瓜及西葫芦14个物种的基因组数据库中进行同源序列检索，最终鉴定并获得TON1同源蛋白序列（蛋白序列见附表S1）。利用MEGA（v7.0）软件的ClustalW 2.x程序对所有TON1同源蛋白序列进行比对，并采用邻接法

及Bootstrap1 000次重复检验构建系统进化树，最后通过Evolview网站完成进化树的可视化美化。

1.4 CsTON1蛋白二级结构、三级结构和磷酸化位点的预测分析

为了解CsTON1蛋白的结构特征，分别利用在线软件SOPMA与SWISS MODEL对其二级和三级结构进行了预测；使用NetPhos 3.1 Server（https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/）对CsTON1蛋白进行磷酸化位点分析。

1.5 TON1保守基序和结构域分析

将比对到的14个物种TON1同源蛋白序列提交到MEME在线网站（https://meme-suite.org/meme/tools/meme）分析TON1的保守motif（设置基序数为8），并用Tbtools软件进行可视化[18]；利用MEGA（v7.0）软件的ClustalW 2.x程序对所有TON1同源蛋白序列进行比对，获得TOF domain、LisH domain和PLL domain这三个保守结构域的信息。

1.6 *CsTON1*基因启动子顺式作用元件分析

从葫芦科基因组数据库网站（http://www.example.com organism/20）获得*CsTON1*基因起始密码子（ATG）上游的2 kb序列，并利用PlantCARE在线工具对启动子区域的顺式作用元件进行分析。

1.7 黄瓜*CsTON1*基因组织表达特性分析

为解析*CsTON1*基因的表达模式，本研究从葫芦科基因组学数据库获取了黄瓜根、茎、叶、花、果实和卷须的公开RNA-Seq数据集（SRA046916）[19]，并基于FPKM值使用TBtools（v2.390）进行可视化（数据见附表S2）。图中以色阶表示表达水平高低，蓝色代表低表达，红色代表高表达。

1.8 qRT-PCR分析黄瓜*CsTON1*表达特性

将黄瓜圆果自交系RNS7和*CsTRM5*-NIL材料种植于山东农业大学南校区园艺试验站9号温室，分别对根、茎、叶、卷须、雌花、雄花和开花当天的果实取样，做好标记后将样品用液氮速冻保存。总RNA使用TRIzol法提取，经质量验证与浓度测定后，采用Evo M-MLV RT Mix Kit with gDNA Clean for qPCR反转录试剂盒反转录成cDNA[20]。使用Primer Premier 5.0设计引物，并以黄瓜肌动蛋白基因作为内参（引物序列见附表S3），且已验证引物效率。qRT-PCR反应以2X SYBR Green Pro Taq HS Premix为检测体系，该反应共包含三步：①预变性：95 ℃加热30 s，1个循环；②PCR扩增：40个循环，每个循环内依次进行：95 ℃变性5 s，55 ℃退火30 s，72 ℃延伸30 s；③最后进行溶解曲线分析，以确认扩增产物的特异性。在CFX Opus 96实时荧光定量PCR系统上完成。试验设置3次生物学重复和3次技术学重复，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法[21]计算*CsTON1*基因的相对表达水平，以上所用试剂及试剂盒均购自湖南艾科瑞生物工程有限公司。

1.9 *CsTON1*对非生物和生物胁迫响应的转录组分析

本研究使用的黄瓜转录组数据均从公共数据库NCBI（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/）下载，具体包括：盐胁迫（75 mM NaCl和0.3 mM Si，GSE116265）[22]、高温胁迫（42 ℃，GSE151055）[23]、白粉病（PM）侵染（GSE81234）[24]以及霜霉病（DM）侵染（SRP009350）[25]条件下的转录组数据（见附表S4）。基于标准化FPKM数值，提取*CsTON1*基因在各样本中的表达量，为避免零值并稳定方差进行$\log_2(x+1)$转换。为分析其在不同胁迫下的表达模式，我们使用TBtools（v2.390）软件的“HeatMap”功能对表达数据进行可视化，生成热图。图表的宽度设置为400，高度设置为180，线宽设置为1.0。图中以色阶表示表达水平高低，蓝色代表低表达，红色代表高表达。

2 结果与分析

2.1 黄瓜*CsTON1*基因鉴定与理化性质分析

本研究将拟南芥的AtTON1蛋白序列作为查询序列，在黄瓜基因组数据库中进行Blastp搜索，输出比对结果，最终仅鉴定到一个*CsTON1*基因。*CsTON1*基因结构如图1所示，包含8个外显子和7个内含子。

利用在线检测网站ProtParam对其进行理化性质分析。从表1中可见，*CsTON1*基因定位于5号染色体上，基因全长为6 989 bp，CDS长度为798 bp，可编码265个氨基酸，其分子量约为29.7 kDa，等电点（pI）为5.68，脂肪族指数为68.87，不稳定性指数为54.26。

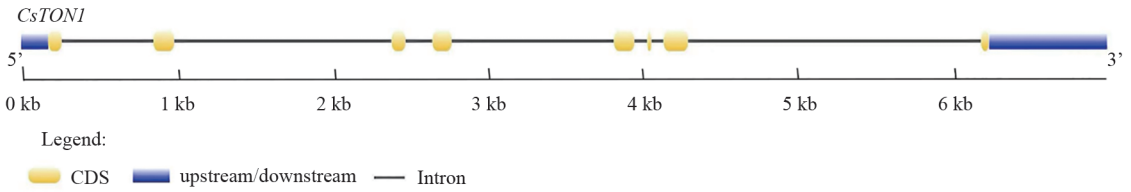


图 1 黄瓜 *CsTON1* 基因结构分析

Fig. 1 Gene structure analysis of cucumber *CsTON1*

表 1 黄瓜 *CsTON1* 基因的鉴定及理化性质分析

Table 1 Identification and physicochemical properties of cucumber *CsTON1*

基因名 Gene	登录号 ID	染色体位置 Chromosomal location	基因长度 Gene length	CDS 长度 CDS length	氨基酸长度 Amino length	分子量 Molecular weight	等电点 pI	脂肪族指数 Aliphatic index	不稳定性指数 Instability index
CsTON1	*CsaV3_5G026080*	5	6 989	798	265	29 698.11	5.68	68.87	54.26

CsTON1 由 20 种氨基酸组成。其中，亮氨酸含量最高（Leu，11.7%），其次是丝氨酸（Ser，11.3%）、精氨酸（Arg，9.1%）；半胱氨酸含量最低（Cys，1.1%），苯丙氨酸（Phe）和色氨酸（Trp）均为 1.5%（表 2）。这种氨基酸组成模式可能影响 CsTON1 蛋白的结构与功能，为后续功能研究提供了基础。

表 2 CsTON1 蛋白的氨基酸含量

Table 2 Amino acid content of CsTON1 protein

氨基酸 Amino acid	缩写 Abbreviation	数量 Number	摩尔百分比/% Mol
Ala	A	16	6.0
Arg	R	24	9.1
Asn	N	12	4.5
Asp	D	21	7.9
Cys	C	3	1.1
Gln	Q	6	2.3
Glu	E	22	8.3
Gly	G	21	7.9
His	H	5	1.9
Ile	I	5	1.9
Leu	L	31	11.7
Lys	K	14	5.3
Met	M	9	3.4
Phe	F	4	1.5
Pro	P	12	4.5
Ser	S	30	11.3
Thr	T	10	3.8
Trp	W	4	1.5
Val	V	9	3.4
Tyr	Y	7	2.6

2.2　TON1 蛋白进化关系分析

为了了解 TON1 蛋白的进化关系，本研究选取了低等植物到高等植物 14 个不同物种的 TON1 同源蛋白氨基酸序列进行比对，绘制了反映其亲缘关系的系统进化树（图 2）。根据亲缘关系的远近，我们可以将 TON1 划分为 6 个进化分支（Group 1-Group 6）。具体分支组成如下：Group 1 包含 6 个葫芦科物种的 TON1 同源蛋白，分别为西瓜 ClTON1、西葫芦 CpTON1、甜瓜 CmTON1、苦瓜 McTON1、冬瓜 BhTON1 和黄瓜 CsTON1；Group 2 中包含 2 个番茄 SlTON1（SlTON1a、SlTON1b）；Group 3 中包含大白菜 BrTON1 和拟南芥 AtTON1（AtTON1a、AtTON1b）；Group 4 中包含玉米 ZmTON1、小麦 TaTON1 和 2 个水稻 OsTON1（OsTON1a、OsTON1b）；Group 5 和 Group 6 分别为银杏 GbTON1 及小立碗藓 PpTON1，呈单物种独立分支分布。其中黄瓜 CsTON1 与冬瓜 BhTON1 的亲缘关系最近，与小立碗藓 PpTON1 的亲缘关系最远。

2.3　TON1 蛋白结构、保守基序及结构域分析

使用 SOPMA 在线工具对 CsTON1 蛋白二级结构的预测结果显示，该蛋白由 α-螺旋、延伸链与无规则卷曲构成，不含有 β-折叠结构。各组分的具体构成为：α-螺旋占 32.08%，无规则卷曲占 66.42%，延伸链仅占 1.51%（表 3）。

将 CsTON1 蛋白序列提交到 SWISS-MODEL 后，获得以下所示的模型（图 3）。该模型并非 CsTON1 蛋白的真实空间结构，而是通过比对提交序列与数据库中所收录的模型进而生

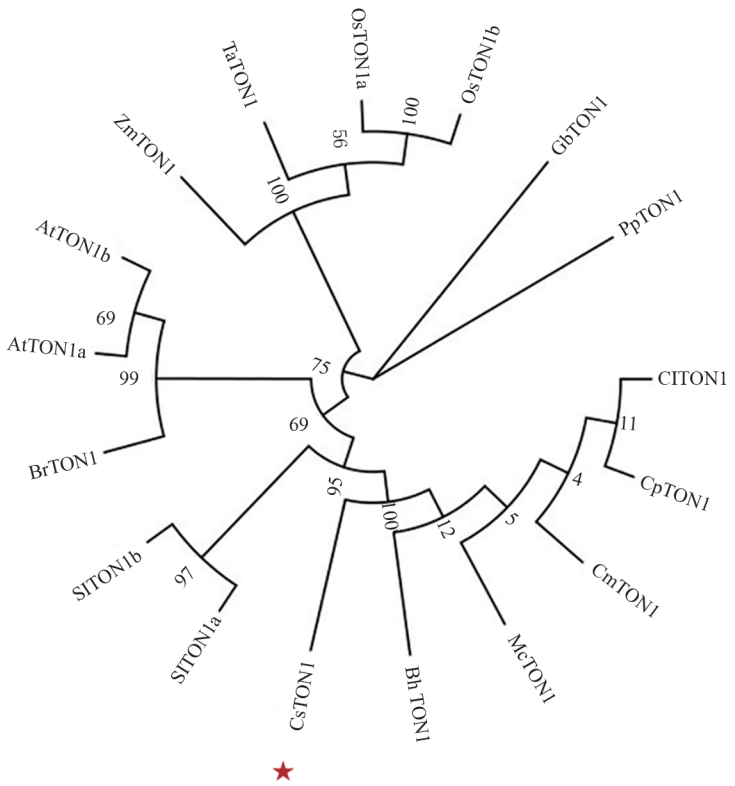


图 2 不同物种中 TON1 蛋白进化关系分析

Fig. 2 Analysis of evolutionary relationships of TON1 proteins in different species

表 3 CsTON1 蛋白的二级结构分析

Table 3 Secondary structure analysis of CsTON1 protein

二级结构 Secondary structure	CsTON1
α-螺旋 Alpha helix	32.08%
β-折叠 Beta turn	0.00%
无规则卷曲 Random coil	66.42%
延伸链 Extended strand	1.51%

成的部分预测结果，但仍能在一定程度上反映 CsTON1 蛋白的三级结构特征。

保守 Motif 基序分析结果显示，葫芦科 TON1 共享 M1-M8 这 8 个基序，而其他物种的 TON1 蛋白均缺失 Motif 8；番茄 SlTON1a 除缺失 Motif 8 外，同时还缺失 Motif 6；而莱茵衣藻 PpTON1 仅含有 M1-M3 基序（图 4）。

用 DNAMAN 软件对小立碗藓（*Physcomitrella patens*）、银杏（*Ginkgo biloba*）、

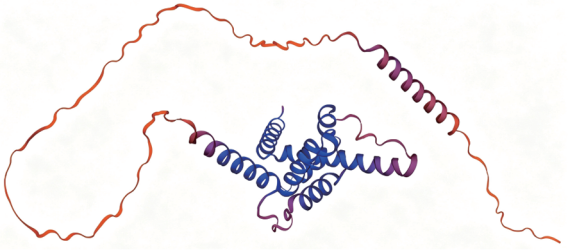


图 3 CsTON1 蛋白的三级结构预测模型

Fig. 3 Tertiary structure prediction model of CsTON1 protein

水稻（*Oryza sativa*）、玉米（*Zea mays*）、小麦（*Triticum aestivum*）、番茄（*Solanum lycopersicum*）、大白菜（*Brassica rapa*）、黄瓜（*Cucumis sativus*）、甜瓜（*Cucumis melo*）、西瓜（*Citrullus lanatus*）、苦瓜（*Momordica charantia*）、冬瓜（*Benincasa hispida*）及西葫芦（*Cu curbita pepo*）这 14 个不同物种的氨基酸序列进行比对，结果表明 TON1 蛋白在进化过程中高度保守，包含三个保守结构域：TOF 结构域、LisH 结构域和 PLL 结构域（图 5）。这说明 TON1 在进化过程中高度保守，且不同物种中的 TON1 蛋白可能具有相似的生物学功能。

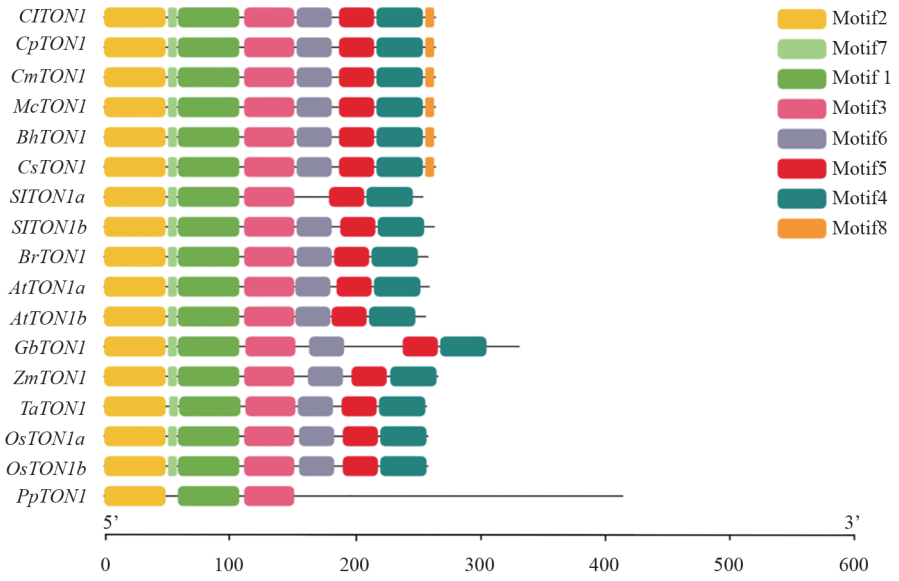


图 4 不同物种中 TON1 保守基序分析

Fig. 4 Analysis of conserved motifs of TON1 in different species

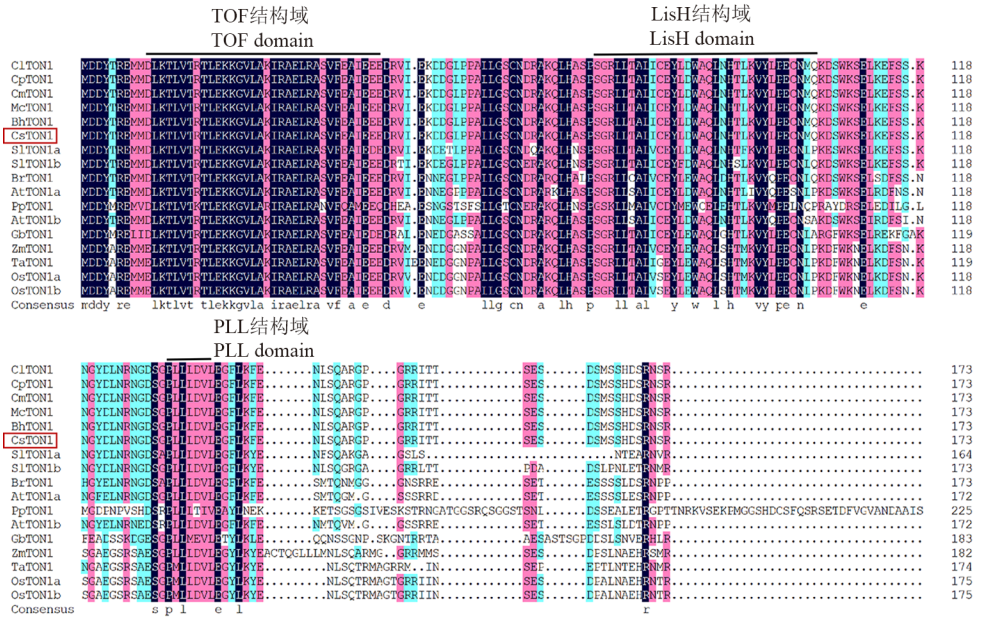


图 5 TON1 蛋白保守结构域分析

Fig. 5 Analysis of conserved domains of TON1 protein

2.4　CsTON1 蛋白磷酸化预测

磷酸化作为一种关键的蛋白质翻译后化学修饰，参与生物体内动态调控机制，与 DNA 损伤修复、转录调控、信号转导及细胞凋亡等生物学功能密切相关。该修饰主要指多肽链中丝氨酸（Ser）、酪氨酸（Tyr）与苏氨酸（Thr）残基侧链羟基发生磷酸酯化所形成的结构。由 NetPhos 3.1 对黄瓜 CsTON1 蛋白磷酸化位点的预测结果显示，该蛋白中共识别出 40 个潜在磷酸化位点（阈值>0.5），包括 29 个丝氨酸（Ser）位点、7 个苏氨酸（Thr）位点及 4 个酪氨酸（Tyr）位点（图 6）。

2.5　*CsTON1* 基因启动子顺式作用元件分析

对 *CsTON1* 上游 2 kb 启动子序列的顺式作用元件分析表明（图 7），其启动子区域分布有多种调控元件，包括启动子核心元件：TATA、TATAT-box；启动子增强元件：CAAT-box、CAT-box；应激反应元件：STRE；脱落酸响应元件：ABRE；光响

应相关元件：AE-box、GT1-motif；转录因子结合元件：Myc、Myb、MYB、MBS、MYB-like、MYC，这表明黄瓜 *CsTON1* 可能在生物胁迫、非生物胁迫响应及植物激素调节中发挥重要作用。

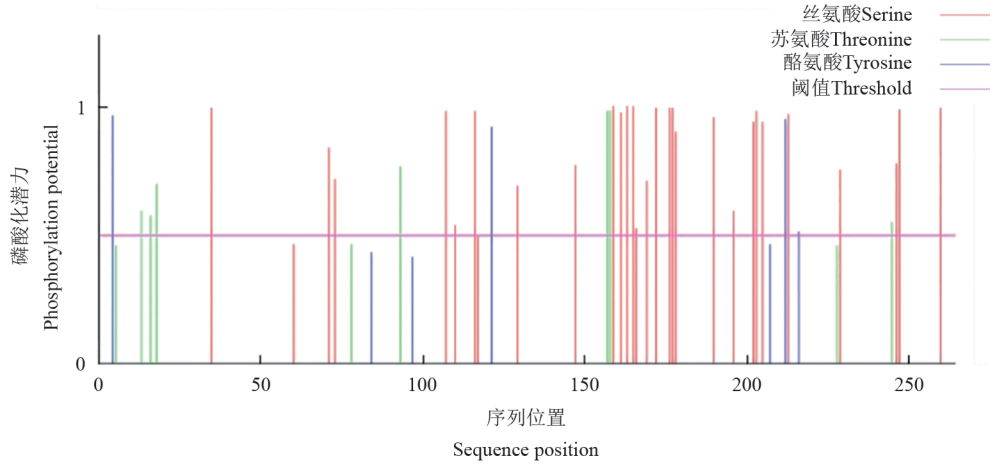


图 6 CsTON1 蛋白的磷酸化位点预测

Fig. 6 Phosphorylation site prediction of CsTON1 protein

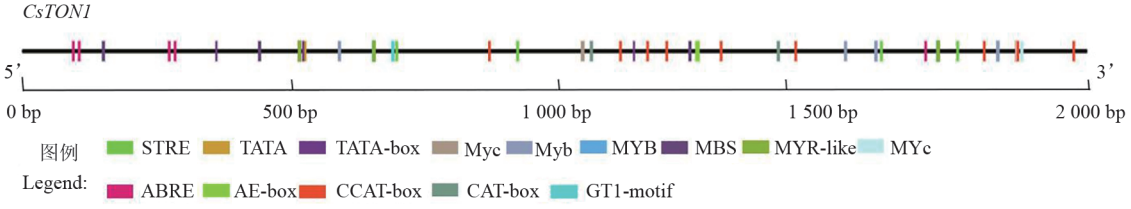


图 7 *CsTON1* 基因启动子顺式作用元件分析

Fig. 7 Analysis of cis-acting elements in the promoter of *CsTON1*

2.6 *CsTON1* 时空表达模式分析

为了深入解析 CsTON1 的功能，本研究利用黄瓜 RNA-seq 数据，分析 *CsTON1* 在黄瓜不同组织中的表达量（图 8A）。结果显示：黄瓜 *CsTON1* 在茎和雄花中表达量较少，在卷须、子房、未受精子房和受精子房中表达量较高，表明其主要参与卷须和果实的生长发育。本研究选择实验室中形态差异较大的圆果自交系 RNS7 和 *CsTRM5*-NIL 材料，利用 qRT-PCR 技术，分析 *CsTON1* 在 RNS7 与 *CsTRM5*-NIL 不同组织中的表达量（图 8B）。结果表明，相较于 RNS7，*CsTON1* 在 *CsTRM5*-NIL 材料的果实中表达量显著上调，这表明 CsTON1 可能与 CsTRM5 协同参与黄瓜果实的形态建成。

2.7 *CsTON1* 基因对非生物胁迫与生物胁迫的响应模式分析

为探究 *CsTON1* 基因在非生物胁迫（盐胁迫、热胁迫）和生物胁迫（病原菌侵染）下的表达调控模式，本研究分析了 *CsTON1* 基因在不同胁迫处理下的表达差异，结果如下：

在盐胁迫（Na）、硅处理（Si）及盐硅复合处理（NaSi）条件下，*CsTON1* 基因呈现出差异表达模式（图 9A）。具体而言，NaCl 单独处理使 *CsTON1* 表达下调，单独 Si 处理该基因表达显著下调；而在盐硅复合处理下，其表达整体呈现上调趋势，与对照组及其他处理组表达特征存在显著区别。上述结果表明，*CsTON1* 可能作为盐胁迫下硅调控通路中的一个响应因子，参与介导相关的生理过程。

黄瓜 *CsTON1* 基因对高温处理的响应结果表明，与对照组相比，高温处理 3 h 和 6 h 的表达量则显著下调（图 9B），说明 *CsTON1* 可能在高温胁迫早期参与信号转导或胁迫应答。

黄瓜 *CsTON1* 基因对白粉病的响应结果表明，*CsTON1* 在 NIS（未接种白粉病的抗病黄瓜品系 SSL508-28 叶片）处理组表达显著上调，IS（接种白粉病的抗病黄瓜品系 SSL508-28 叶片）处理组表达变化不明显；在 NID（未接种白粉病的感

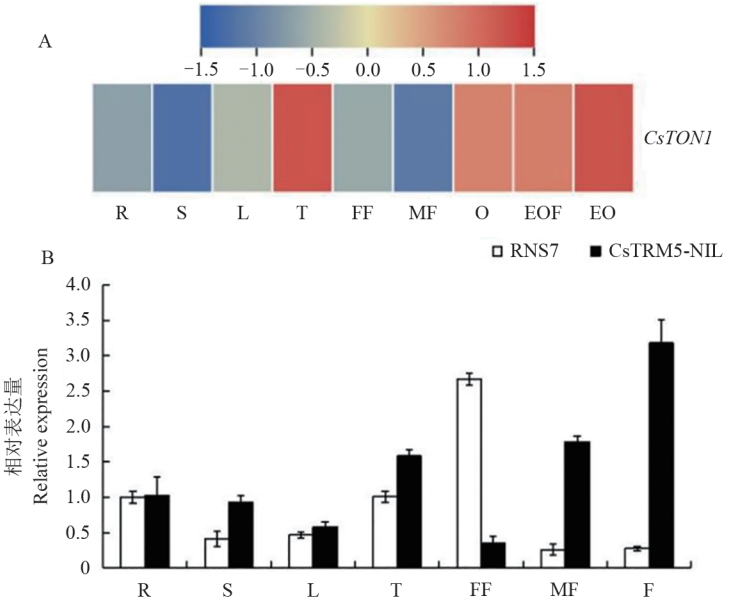
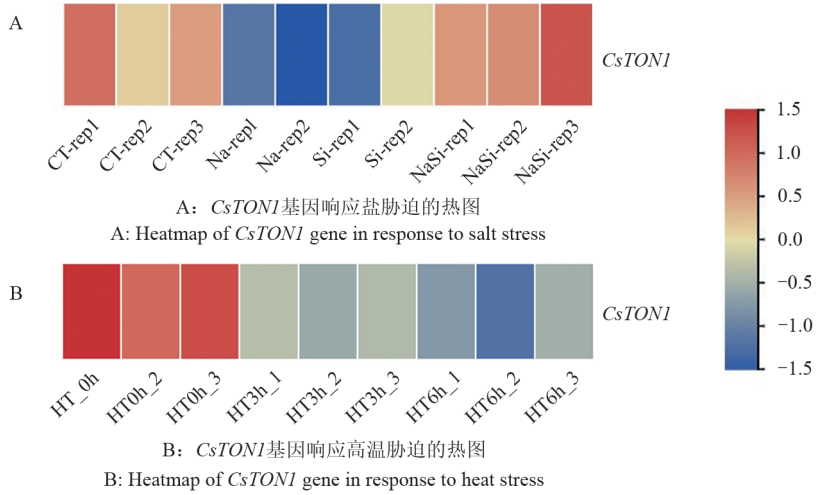


图 8 黄瓜 *CsTON1* 基因在不同组织中的表达量分析

Fig. 8 Expression analysis of cucumber *CsTON1* gene in different tissues

注：R：根；S：茎；L：叶；T：卷须；FF：雌花；MF：雄花；F：果实；O：子房；EOF：受精子房；EO：未受精子房。

Note: R: root; S: stem; L: leaf; T: tendril; FF: female flower; MF: male flower; F: fruit; O: ovary; EOF: expanded ovary fertilized; EO: expanded ovary unfertilized.



A：*CsTON1* 基因响应盐胁迫的热图

A: Heatmap of *CsTON1* gene in response to salt stress

B：*CsTON1* 基因响应高温胁迫的热图

B: Heatmap of *CsTON1* gene in response to heat stress

图 9 *CsTON1* 基因响应非生物胁迫的表达模式

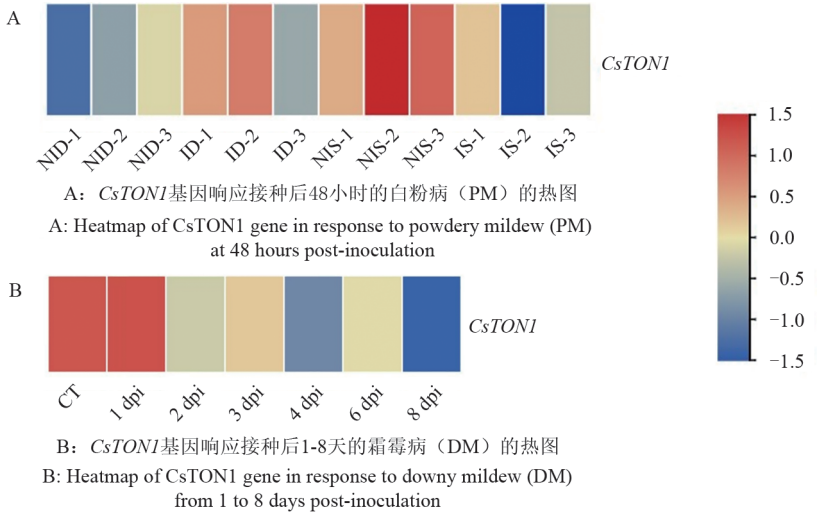
Fig. 9 Expression patterns of *CsTON1* gene in response to abiotic stresses

注：CT：对照处理；Na：盐（75 mM）处理；Si：硅（0.3 mM）处理；NaSi：盐胁迫（NaCl）和外源盐加硅处理（NaSi）；HT（高温处理）：HT 0 h，42 ℃处理 0 h；HT 3 h，42 ℃处理 3 h；HT 6 h，42 ℃处理 6 h。

Note: CT:control treatment; Na:salt (75 mM) treatment; Si:silicon (0.3 mM) treatment; NaSi:salt stress (NaCl) and exogenous salt plus silicon treatment (NaSi); HT(heat treatment):HT 0h, treatment at 42 °C for 0 hour; HT 3 h, treatment at 42 °C for 3 hours; HT 6h, treatment at 42 °C for 6 hours.

病黄瓜品系 D8 叶片）处理组表达显著下调，ID（接种白粉病的感病黄瓜品系 D8 叶片）处理组表达变化不明显（图 10A）。说明 *CsTON1* 可能在黄瓜抗白粉病机制中发挥重要作用。

黄瓜 *CsTON1* 基因对霜霉病菌侵染不同时间点的响应结果表明，与对照组 CT 相比，侵染后 1 dpi（接种后 1 d）*CsTON1* 基因表达变化无明显差异，2 dpi、3 dpi 表达趋于平稳，4 dpi、8 dpi 表达显著下调（图 10B），表明 *CsTON1* 可能参与黄瓜对霜霉病的早期防御响应。



A：*CsTON1*基因响应接种后48小时的白粉病（PM）的热图

A: Heatmap of CsTON1 gene in response to powdery mildew (PM) at 48 hours post-inoculation

B：*CsTON1*基因响应接种后1-8天的霜霉病（DM）的热图

B: Heatmap of CsTON1 gene in response to downy mildew (DM) from 1 to 8 days post-inoculation

图 10 *CsTON1*基因响应生物胁迫下的表达模式

Fig. 10 Expression patterns of *CsTON1* gene in response to biotic stresses

注：ID：接种白粉病的感病黄瓜品系D8叶片；NID：未接种的D8叶片；IS：接种白粉病的抗病黄瓜品系SSL508-28叶片；NIS：未接种的SSL508-28叶片；CT：未接种对照组；dpi：接种后天数。

Note: ID:PM-inoculated leaves of the susceptible cucumber line D8; NID:non-inoculated leaves of D8; IS:PM-inoculated leaves of the resistant cucumber line SSL508-28; NIS:non-inoculated leaves of SSL508-28; CT:control without inoculation; dpi:days post-inoculation.

3 讨论

TON1基因最早是在拟南芥中鉴定到的[26]，且已深入研究了*TON1*基因在调控细胞分裂平面、微管排列及器官形态建成中的重要作用。目前在小立碗藓[27]、水稻[10]、玉米[13]等物种中已有相关研究，然而在黄瓜中*TON1*基因的研究尚未见报道，其功能机制也仍不明确。

研究发现，拟南芥*AtTON1*能够在小立碗藓*Ppton1*突变体中异源表达，从而恢复其配子体发育缺陷[26]。在突变体中，原本紊乱的细胞分裂平面、缺失的分裂前期带（PPB）及受阻的细胞伸长表型，均在*AtTON1*的表达下恢复至野生型水平，反之亦然。这表明*TON1*基因调控微管列阵（如PPB形成、间期微管有序排列）的功能，在长期进化中高度保守。本研究发现，黄瓜CsTON1同样具备序列保守性：其蛋白序列含TOF、LisH、PLL三个保守结构域且与拟南芥AtTON1高度同源。其中TOF结构域位于序列的N端[28]，主要介导蛋白互作，例如与TRM家族成员的结合；LisH结构域则参与蛋白在微管上的定位[29]；PLL结构域通过维持蛋白构象的稳定来调控其功能[30]。此外，系统进化分析进一步显示，葫芦科物种的TON1蛋白集中聚类于Group 1，且完全包含Motif 1-Motif 8，而番茄SlTON1a、莱茵衣藻PpTON1等物种则存在特定基序（如Motif 8）的缺失。这表明，TON1基因在陆生植物中虽整体保守，但在葫芦科植物中可能保留了更为完整的序列特征，这可能与葫芦科植物果实发育、形态建成过程中的细胞分裂有关。

从组织表达模式来看，*CsTON1*在*CsTRM5*-NIL材料的果实中表达量显著上调。值得注意的是，*CsTRM5*作为*TRM*家族成员，已被证实通过调控细胞分裂影响黄瓜果实长度，且TRM蛋白是TON1的关键互作伴侣[31]。这一结果暗示CsTON1与CsTRM5很可能在黄瓜果实发育中存在功能关联。CsTON1蛋白存在40个潜在磷酸化位点。在拟南芥中，TON1的磷酸化修饰已被证实参与植物微管细胞骨架PPB的形成和TTP复合物活性调控[4]。基于拟南芥、水稻和玉米的相关研究，我们提出一个在黄瓜中可能的工作模型：CsTON1通过与CsTRM5互作，并进一步招募CsPP2A蛋白磷酸酶，共同形成TTP（TON1-TRM-PP2A）复合物。该复合物通过调控皮层微管的动态排列和组织，影响PPB的形成与细胞伸长方向，从而在黄瓜果实形态建成中发挥重要调控作用。

*CsTON1*基因启动子区域鉴定到ABRE、MYC/MYC-like、STRE等多种激素与胁迫响应元件，同时该基因的表达在盐、热胁迫及白粉病、

霜霉病侵染下均发生显著变化，且在抗、感病材料中呈现差异模式。这些结果表明，*CsTON1* 的表达受到ABA、JA等多种激素信号及生物/非生物胁迫的协同调控。我们推测 *CsTON1* 可能作为一个关键的信号整合节点：当植物遭遇逆境时，相应的激素信号可通过激活特定转录因子，调控 *CsTON1* 的转录水平；其蛋白活性也可能通过磷酸化等翻译后修饰被快速调节，进而影响其参与的TTP复合物的功能，最终调控植物的生长发育与逆境适应。这表明 *CsTON1* 很可能具备响应逆境信号与调控生长发育的多重功能，在植物应对环境变化时发挥重要的作用。

综上所述，本研究初步鉴定并分析了黄瓜中 *CsTON1* 基因的特征及其在发育与胁迫响应中的潜在作用，但结论仍有待直接的遗传与生化实验进行验证。后续可利用CRISPR/Cas9等技术获得 *Cston1* 突变体，分析其在细胞形态、器官发育（尤其是果实）及抗逆性方面的表型；通过酵母双杂交、免疫共沉淀等技术，验证CsTON1与CsTRM5、CsPP2A蛋白的互作；从细胞学角度对微管排列和细胞结构进行观察，从而进一步阐明 *CsTON1* 在黄瓜果实发育中的具体分子机制与调控网络。

4　结论

本研究在黄瓜中鉴定到一个 *CsTON1* 基因，该基因位于5号染色体，基因全长为6 989 bp，CDS长度为798 bp，编码265个氨基酸；系统进化分析显示，CsTON1与冬瓜BhTON1的亲缘关系最近，与小立碗藓PpTON1的亲缘关系最远；黄瓜CsTON1高度保守，含有M1-M8保守基序和TOF、LisH、PLL三个保守结构域；该蛋白存在多个磷酸化位点，其二级结构以无规则卷曲为主；组织表达特异性分析发现，*CsTON1* 在黄瓜各组织中均有表达，且在果实中表达量最高；*CsTON1* 可响应盐胁迫和高温胁迫，同时也响应白粉病原菌和霜霉病菌侵染。

参考文献

[1] 薛秀花,任海云.细胞骨架在植物细胞周期进程中的动态变化及其调控[J].北京师范大学学报(自然科学版),2016 (06): 687-695.

[2] Traas J, Bellini C, Nacry P, et al. Normal differentiation patterns in plants lacking microtubular preprophase bands [J]. Nature, 1995, 375: 676-677.

[3] Mineyuki Y. The preprophase band of microtubules: its function as a cytokinetic apparatus in higher plants [J]. International Review of Cytology, 1999, 187: 1-49.

[4] Azimzadeh J, Nacry P, Chriodoulidou A, et al. Arabidopsis TONNEAU1 proteins are essential for preprophase band formation and interact with centrin [J]. The Plant Cell, 2008, 20(8): 2146-2159.

[5] Camilleri C, Azimzadeh J, Pastuglia M, et al. The Arabidopsis TONNEAU2 gene encodes a putative novel protein phosphatase 2A regulatory subunit essential for the control of the cortical cytoskeleton [J]. The Plant Cell, 2002, 14 (4): 833-845.

[6] Drevensek S, Goussot M, Duroc Y, et al. The Arabidopsis TRM1-TON1 interaction reveals a recruitment network common to plant cortical microtubule arrays and eukaryotic centrosomes [J]. The Plant Cell, 2012, 24 (1): 178-191.

[7] Spinner L, Gadeyne A, Belcram K, et al. A protein phosphatase 2A complex spatially controls plant cell division [J]. Nature Communications, 2013, 4: 1863.

[8] Schaefer E, Belcram K, Uyttewaal M, et al. The preprophase band of microtubules controls the robustness of division orientation in plants [J]. Science, 2017, 356 (6334): 186-189.

[9] Yang Y Q, Chen B Q, Dang X, et al. Arabidopsis IPGA1 is a microtubule-associated protein essential for cell expansion during petal morphogenesis [J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 70 (19): 5231-5243.

[10] Wang S K, Li S, Liu Q, et al. The OsSPL16-GW7 regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality [J]. Nature Genetics, 2015, 47 (8): 949-954.

[11] Wang Y X, Xiong G S, Hu J, et al. Copy number variation at the GL7 locus contributes to grain size diversity in rice [J]. Nature Genetics, 2015, 47 (8): 944-948.

[12] Wu Y Z, Zhao Y, Yu J P, et al. Heterotrimeric G protein γ subunit DEP1 synergistically regulates grain quality and yield by modulating the TTP (TON1-TRM-PP2A) complex in rice [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2023, 50 (7): 528-531.

[13] Wang Q, Fan J J, Cong J, et al. Natural variation of ZmLNG1 alters organ shapes in maize [J]. New Phytologist, 2023, 237 (2): 471-482.

[14] 葛 倩. 黄瓜果型候选基因的克隆及功能探究[D]. 泰安:山东农业大学,2018.

[15] Wang X F, Li H, Gao H, et al. Localization of quantitative trait loci for cucumber fruit shape by a population of chromosome segment substitution lines [J]. Scientific Reports, 2020, 10 (1): 11030.

[16] 李 豪. 黄瓜果形主效 QTL Fl1.2 和 Fl2.1 近等基因系的构建及其候选基因的功能分析[D]. 泰安:山东农业大学,2020.

[17] 虎亚静 .CsTRM5 近等基因系表型鉴定及基因功能初步研究[D]. 泰安:山东农业大学,2022.

[18] Chen C, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. Molecular Plant, 2020, 13: 1194-1202.

[19] Li Z, Zhang Z, Yan P, et al. RNA-Seq improves annotation of protein-coding genes in the cucumber genome [J]. BMC Genomics, 2011,12:540.

[20] 陈琳杰,常婧姝,张 宇,等. 黄瓜 FtsZs 基因家族鉴定及分析[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2024, 55(05):774-781.

[21] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 (-Delta Delta C (T)) Method [J]. Methods, 2001, 25 (4): 402-408.

[22] Zhu Y, Yin J, Liang Y, et al. Transcriptomic dynamics provide an insight into the mechanism for silicon-mediated alleviation of salt stress in cucumber plants [J]. Ecotoxicology Environmental Safety, 2019 ,174:245-254.

[23] Chen X, Wang Z, Tang R, et al. Genome-Wide identification and expression analysis of Hsf and Hsp gene families in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Journal Of Plant Growth Regulation, 2021, 95:223-239.

[24] Xu Q, Xu X, Shi Y, et al. Elucidation of the molecular responses of a cucumber segment substitution line carrying Pm5.1 and its recurrent parent triggered by powdery mildew by comparative transcriptome profiling [J]. BMC Genomics, 2017 ,18(1):21.

[25] Adhikari B N, Savory E A, Vaillancourt B, et al. Expression Profiling of Cucumis sativus in Response to Infection by *Pseudoperonospora cubensis* [J]. PLoS ONE 2012, 7(4): e34954.

[26] Traas J, Bellini C, Nacry P, et al. Normal differentiation patterns in plants lacking microtubular preprophase bands [J]. Nature , 1995 , 375: 676 - 677.

[27] Spinner L, Pastuglia M, Belcram K, et al. The function of TONNEAU1 in moss reveals ancient mechanisms of division plane specification and cell elongation in land plants [J]. Development, 2010, 137 (16): 2733-2742.

[28] Popovici C, Zhang B, Gregoire MJ, et al. The t(6;8) (q27; p11) translocation in a stem cell myeloproliferative disorder fuses a novel gene, FOP, to fibroblast growth factor receptor 1 [J]. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 1999, 93(4):1381 - 1389.

[29] Emes R D, Ponting C P. A new sequence motif linking lissencephaly, Treacher Collins and oral-facial-digital type 1 syndromes, microtubule dynamics and cell migration [J]. Human Molecular Genetics, 2001, 10(24):2813-2820.

[30] Mikolajka A, Yan X, Popowicz G M, et al. Structure of the N-terminal domain of the FOP (FGFR1OP) protein and implications for its dimerization and centrosomal localization [J]. Journal of Molecular Biology, 2006, 359:863 - 875.

[31] Li X, Zhang Y, Wang L, et al. CsTRM5 regulates fruit length by promoting longitudinal cell elongation in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Journal of Experimental Botany, 2021, 72(15): 5634-5647.