

‘肥城’桃缝合线塌陷相关基因*PpCaMBP*的序列与表达分析

张泽杰^{1,2,3}, 付喜玲^{1,2,3}, 肖伟^{1,2,3}, 李玲^{1,2,3}, 高东升^{1,2,3}, 李冬梅^{1,2,3,*}, 陈修德^{1,2,3,*}

¹作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

²山东果蔬优质高效生产协同创新中心, 山东泰安271018

³山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东泰安271018

摘要: 果实缝合线塌陷是‘肥城’桃(*Prunus persica* cv. Feicheng)生产上常见的病害, 常被认为与钙信号调控有关。钙调素结合蛋白作为钙信号调控系统的重要组成部分, 是研究钙信号作用机制的关键因子。本试验利用PF07839探针在‘肥城’桃果实中发现4个*PpCaMBP*基因, 并对其进行亚细胞定位预测、结构域、进化树等生物信息学分析; 对Ca²⁺ (硝酸钙)、三氟拉嗪(TFP)、Ca²⁺+TFP、清水(对照)处理的果实进行*PpCaMBP*基因表达分析, 筛选与‘肥城’桃缝合线塌陷相关的*PpCaMBP*候选基因。生物信息学分析发现: 4个基因均为定位于细胞核的钙调素结合蛋白基因, 其中*Prupe.7G047600*与櫻桃的*pav sc0001869.1.g380.1.mk*具有较近的亲缘关系。定量分析结果表明: 与正常果相比, 病果中*Prupe.7G047600*在缝合线处表达量下降; 与不易发病的白里桃相比, *Prupe.7G047600*在红里桃各部位的表达量普遍较低; Ca²⁺处理促进*Prupe.7G047600*基因的表达; *Prupe.7G047600*可能是参与‘肥城’桃缝合线塌陷症状调控的候选基因。

关键词: ‘肥城’桃; *PpCaMBP*; 生物信息学分析; 表达分析

植物体作为复杂而协调的生命体, 其正常运作与细胞内的信号转导网络有关。目前, 植物细胞信号转导主要有环核苷酸(cyclic nucleotide monophosphate, cNMP)、多磷酸肌醇(inositol polyphosphate)、钙等第二信使系统(曾后清2016)。其中, 钙信使系统主要是钙结合蛋白(Ca²⁺-binding proteins)感受一系列钙信号(calcium signature)变化, 进而向下传递(McAinsh和Pittman 2009; Yang和Poovaiah 2003)。钙调素(calmodulin, CaM)作为一种普遍存在的钙结合蛋白(Snedden和Fromm 2001), 本身无生物学活性, 只有在响应细胞内Ca²⁺的动态变化后与Ca²⁺结合, 暴露出疏水区与靶蛋白即钙调素结合蛋白(calmodulin-binding protein, CaMBP)结合, 才能调节细胞内多种酶活性, 从而调控植物生长发育(Marm 1989)。CaMBP作为一种受CaM调控的蛋白酶(Reddy和Day 2001), 在细胞或组织内的存在状况及功能决定着上游CaM的功能, 其对CaMBP的分析与鉴定成为研究钙信使系统的热点问题之一。

‘肥城’桃(*Prunus persica* cv. Feicheng)又名佛桃, 蔷薇科(Rosaceae)李属桃亚属(*Prunus* subg. *Amygdalus*)落叶小乔木, 是山东省名特产。在‘肥城’桃品系中栽培价值最高的为红里桃与白里桃,

两者在果实生长发育及品质上存在较大差异: 白里桃不易软化, 采后耐贮, 靠核部分白色; 红里桃则易软化, 不耐藏, 靠核部分红色且易褐变。近年来较为严重的‘肥城’桃缝合线塌陷问题多发生于红里桃, 近成熟期的果实缝合线处出现凹陷和褐色斑点, 随果实膨大, 缝合线处的组织逐渐下陷, 在靠近外果皮处出现离层组织, 并逐渐木栓化变灰坏死, 严重感病的‘肥城’桃果肉全部变为红褐色, 丧失食用价值, 严重制约‘肥城’桃产业的发展。关于钙与果实品质方面的研究多集中于生理水平, 前人研究发现喷钙处理能有效延缓猕猴桃(*Actinidia chinensis*)果实的衰老, 稳定细胞壁结构, 保持果实硬度(Manganaris等2010); Kou等(2015)发现CaCl₂浸泡对减轻梨(*Pyrus* spp.)果实褐化腐烂具有重要作用; 王雷等(2016)研究发现采前喷钙处理可增加果实糖酸比及果胶含量, 对抑制果实软化、提高果实品质等方面具有重要作用。有关于钙信

收稿 2019-01-15 修定 2019-06-11

资助 山东省林业科技创新项目(LYCX04-2018-21)和山东省现代农业产业技术体系果品创新团队-栽培土肥岗(SDAIT-06-01)。

* 共同通讯作者: 李冬梅(dmli2002@163.com)、陈修德(chenxiude@163.com)。

使系统调控果实品质的研究鲜有报道。本研究以‘肥城’桃为试验材料,利用PCR扩增方法克隆得到了*PpCaMBP*基因的全长cDNA序列,并对‘肥城’桃*PpCaMBP*基因进行亚细胞定位、结构域、进化树等生物信息学分析,筛选参与缝合线塌陷调控的*PpCaMBP*候选基因,找出导致‘肥城’桃缝合线塌陷的关键时期,为深入研究‘肥城’桃中Ca²⁺-CaM的分子调控机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

试验于2016年9月开始,在肥城市西尚里村‘肥城’桃[*Prunus persica* (L.) Batsch cv. Feicheng]研究所试验基地(36°18'N 116°74'E)进行。采集红里桃病果缝合线及缝合线背面(以下简称“果背”)两处的果肉进行定量分析,筛选与塌陷相关*CaMBP*基因,以正常果为对照;采集红里和白里两个‘肥城’桃品系的根、茎、芽、种子、叶等组织进行特异性表达分析;于花后一个月开始,采集幼果期(I)、硬核期(II)、膨大期(III)、成熟期(IV)、采收期(V)五个果实发育期的果实进行不同发育期的表达分析。

选取长势一致的12株红里‘肥城’桃为试材,试验共设4个处理:(1) 0.5% (最终钙元素浓度) Ca(NO₃)₂溶液(以下简称为“Ca”);(2) 0.5% Ca(NO₃)₂+500 μmol·L⁻¹三氟拉嗪(trifluoperazine, TFP, 具有Ca²⁺-CaM拮抗作用的钙信号抑制剂)溶液(以下简称为“Ca+TFP”);(3) 500 μmol·L⁻¹ TFP溶液(以下简称为

“TFP”);(4)清水为对照(CK)。每个处理3次重复。花后一个月处理,处理后6 h取样存放于液氮备用,用于探究*PpCaMBP*相关基因在不同处理下的表达变化。取样时,将采集样品分装、液氮速冻后,置于-80°C冰箱保存备用。

1.2 *PpCaMBP*基因获取与引物设计

以PF07839为探针在桃全基因组数据库(http://www.rosaceae.org/species/prunus/prunus_persica)中进行同源序列基因搜索,查找*PpCaMBP*同源基因,用MEGA 4.1软件进行序列比对及系统进化分析。*PpCaMBP*的克隆引物、荧光定量引物及桃内参引物由擎科梓熙生物技术(青岛)有限公司合成(表1)。

1.3 桃RNA提取及*PpCaMBP*的克隆与表达分析

总RNA提取采用北京天根生化科技公司提供的RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒。利用反转录试剂盒Prime Script RT Reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time, TaKaRa)进行反转录PCR (reverse transcription-PCR, RT-PCR)获得cDNA,参照说明书进行操作。目的基因测序由北京华大基因公司完成。RT-PCR采用SYBR Green染料法(宝生物科技有限公司),具体操作步骤参照说明书进行。

1.4 *PpCaMBP*基因的生物信息学分析

利用NCBI的Conserved Domains在线软件进行结构域分析;利用BLASTX进行在线同源序列分析;利用ProtParam (<http://www.expasy.org/proteomics/>)进行蛋白质理化性质分析;利用Cell-PLoc 2.0

表1 实验所用引物信息

Table 1 Information of primer sequences in this study

桃基因名称	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')	用途
<i>Prupe.7G047600</i>	<u>GTCGACATGATTGATAAGGAGCTTGAAG</u>	<u>CCCGGGTCAGTGAGTAGCTTGTGGCT</u>	克隆
<i>Prupe.3G258800</i>	<u>GTCGACATGGATGAAGTGAGTATCA</u>	<u>GGATCCTCAAGCAACAGAGCTT</u>	克隆
<i>Prupe.2G029500</i>	<u>GTCGACATGGTCCAAAGAAAGGTACC</u>	<u>GGATCCTCAGCTACAAGCTTGCATAG</u>	克隆
<i>Prupe.5G200000</i>	<u>GTCGACATGGAAGTAGAGAACGTTGGT</u>	<u>GGTACCTCAGCATGCATCTTCCA</u>	克隆
<i>Prupe.7G047600</i>	TTATGCCCTTCAACAGGC	GAGTCATCCAACCAAGAGC	定量
<i>Prupe.5G200000</i>	CAGACCCCTTGACAGTGGAA	GCCTTCTCACCTTGATTCA	定量
<i>Prupe.3G258800</i>	CGAGTAAACTTGTGAAACCCG	CCATCAGAAAGGAGTGCGA	定量
<i>Prupe.2G029500</i>	CCAGTGCCCAAATGTGAA	CCCGTAGTTTCTCTGTGCCG	定量
<i>Prupe.6G163400</i>	GTTATTCTTCATCGGCGTCTTCG	CTTCACCATTCAGTTCATTGTC	内参

下划线部分为限制性内切酶位点。

(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2>)进行亚细胞定位预测;利用钙调素结构分析网站(<http://calcium.oci.utoronto.ca>)确定蛋白质的钙调素结合区域(牛玉强2008);使用MEGA 5.0构建系统进化树,具体步骤参考Wang等(2011)的报道。

1.5 数据处理

采用Excel 2007进行数据处理及分析,用Graphpad Prism 6软件作图。

2 实验结果

2.1 桃*PpCaMBP*基因克隆

根据‘肥城’桃预测基因*PpCaMBP*的编码序列(coding sequence, CDS)从‘肥城’桃叶片中进行目的基因的克隆,得到4个大小分别为4 158、3 144、1 689、2 814 bp的基因片段,经测序目的基因片段的序列与预测基因完全一致(图1),分别为*Prupe.7G047600*、*Prupe.5G200000*、*Prupe.3G258800*、*Prupe.2G029500*。

2.2 *PpCaMBP*的生物信息学特性分析

‘肥城’桃4个*PpCaMBP*基因位于4条不同的染色体上,长度在562~1 385 aa之间,等电点在4.8~9.7之间,平均分子质量为108.4 kDa,均定位于细胞核(表2)。仅*Prupe.7G047600*含有一个内含子,且相位为1,其余3个基因均不含内含子(图2)。

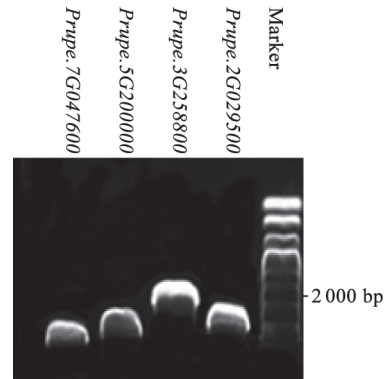


图1 桃*CaMBP*基因克隆

Fig.1 Cloning of peach *CaMBP* genes

对*PpCaMBP*氨基酸序列进行结构和功能分析,显示4条序列的尾部具有较高相似性(图3-A);分析相应的保守元件发现, motif 1和2是4个*PpCaMBP*基因共有的保守元件(图3-B)。钙调素结合域分析发现, *Prupe.7G047600*在751~801 aa之间、*Prupe.5G200000*在801~851 aa之间、*Prupe.3G258800*在501~551 aa之间、*Prupe.2G029500*在251~301 aa之间分别存在一段推测的钙调素结合域(CaM-binding domain, CaMBD) (图4),这个区域在蛋白中的出现是该蛋白与CaM潜在互作、响应胞质Ca²⁺波动调控细胞发育的关键。

表2 桃*CaMBP*基因及相关信息

Table 2 List of peach *CaMBP* genes and related information

基因名	染色体定位/bp	氨基酸长度/aa	等电点	分子质量/kDa	亚细胞定位
<i>Prupe.7G047600</i>	Pp07: 8 435 217~8 440 476	1 385	5.8	153.5	核
<i>Prupe.3G258800</i>	Pp03: 24 562 918~24 567 552	562	9.7	61.9	核
<i>Prupe.2G029500</i>	Pp02: 3 108 977~3 112 510	937	4.8	103.9	核
<i>Prupe.5G200000</i>	Pp05: 16 089 591~16 094 996	1 047	9.6	114.3	核

染色体定位表示该基因定位在染色体上的位置。

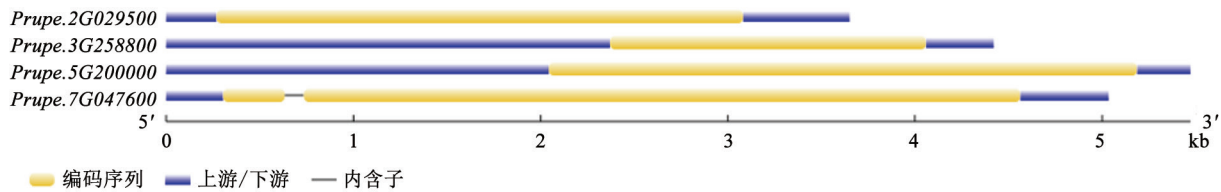


图2 桃*CaMBP*基因内含子分布

Fig.2 Schematic diagram shows intron distribution in peach *CaMBP* genes

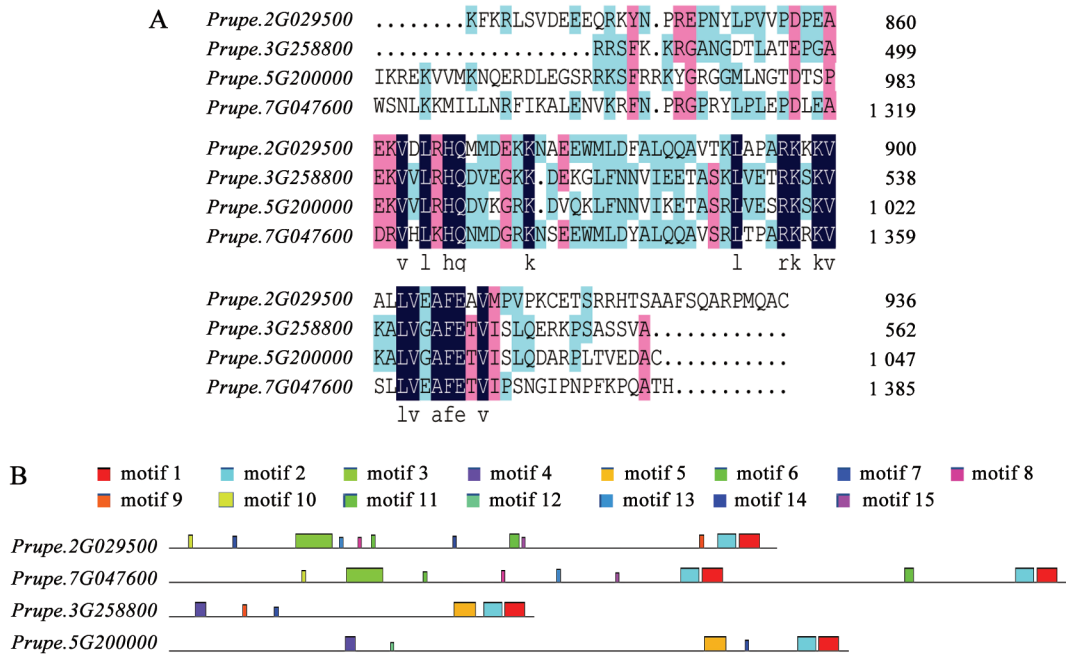


图3 *PpCaMBP*基因序列(A)与保守元件(B)分析
 Fig.3 Sequence (A) and conserved motif (B) analyses of *PpCaMBP* genes

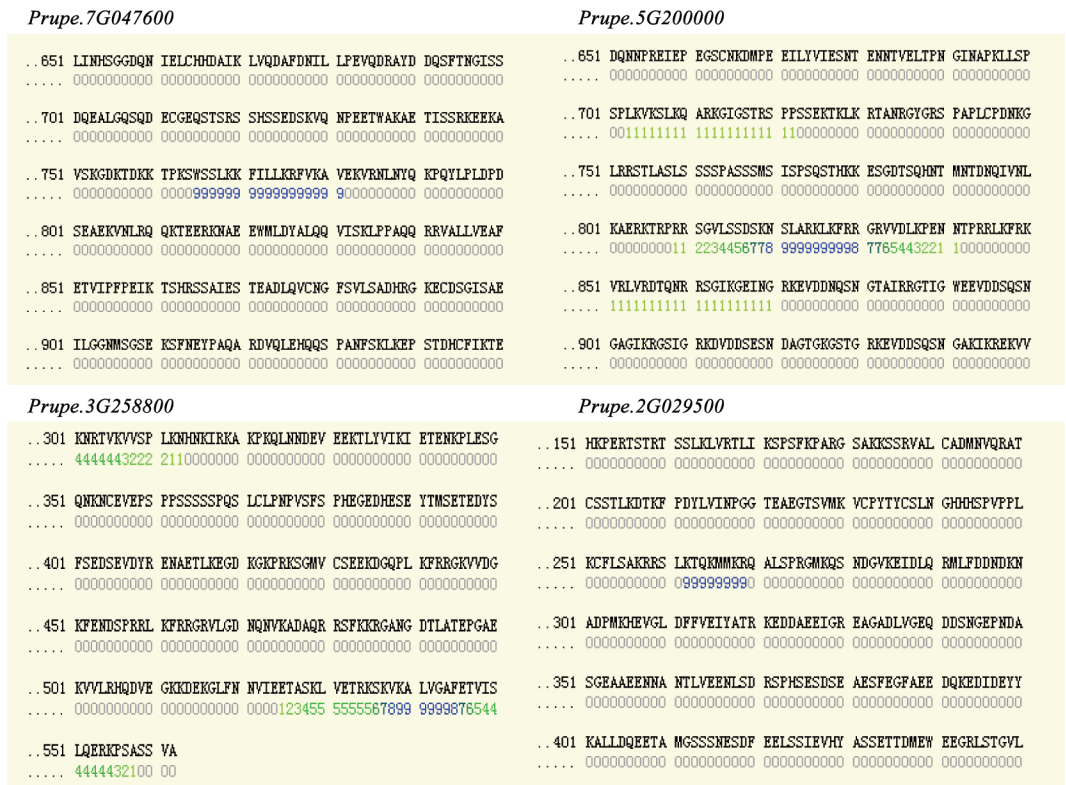


图4 *PpCaMBP*基因可能的钙调素结合域
 Fig.4 Prediction of putative CaM-binding domain in *PpCaMBP* genes
 图中数值越大, 表示成为钙调素结合域的可能性越大。

通过检索*PpCaMBP*同源的其他物种的42个氨基酸序列,进行聚类分析,构建系统进化树,结果表明,*Prupe.7G047600*与樱桃(*P. pseudocerasus*)的pav sc0001869.1.g380.1.mk具有较近的亲缘关系,可靠性为99,说明*CaMBP*在樱桃和桃中氨基酸序列相似,可能具有相似的功能(图5)。

2.3 *PpCaMBP*基因在不同发病部位的定量分析

通过RT-PCR技术分析‘肥城’桃*PpCaMBP*在病果及正常果缝合线及果背处的表达水平,表明*Prupe.7G047600*在病果缝合线处的表达量与正常果相比显著下降,果背则显著上升;*Prupe.5G200000*

在病果两个部位的表达量与正常果相比均表现为上升趋势,但无显著性差异;*Prupe.2G029500*在病果不同部位中的表达量均低于正常果,与*Prupe.5G200000*变化相反;*Prupe.3G258800*未检测到表达量(图6)。

2.4 *PpCaMBP*基因对不同钙及钙抑制剂处理的响应

检测不同钙及钙抑制剂处理对‘肥城’桃*PpCaMBP*基因表达的影响,可知与缝合线塌陷相关的3个基因在不同处理下的响应存在一定差异(图7)。与对照相比,Ca处理促进了*Prupe.7G047600*

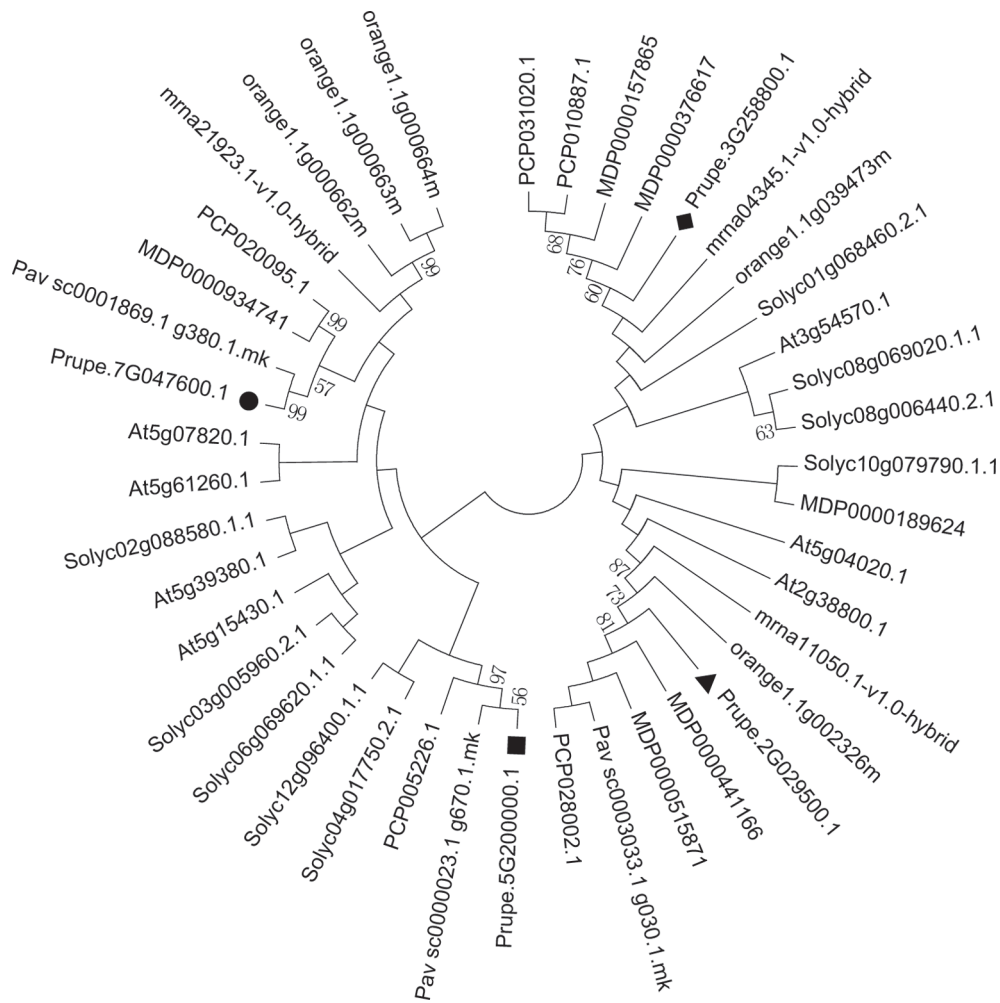


图5 *CaMBP*蛋白系统进化树

Fig.5 Phylogenetic tree for *CaMBP* proteins

除桃*CaMBP*蛋白外,图中分别展示了拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中的5个*CaMBP*蛋白、番茄(*Solanum lycopersicum*)中的9个*CaMBP*蛋白、苹果(*Malus pumila*)中的6个*CaMBP*蛋白、草莓(*Fragaria × ananassa*)中的3个*CaMBP*蛋白、樱桃(*Prunus pseudocerasus*)中的3个*CaMBP*蛋白、梨(*Pyrus spp.*)中的5个*CaMBP*蛋白和柑橘(*Citrus reticulata*)中的5个*CaMBP*蛋白。

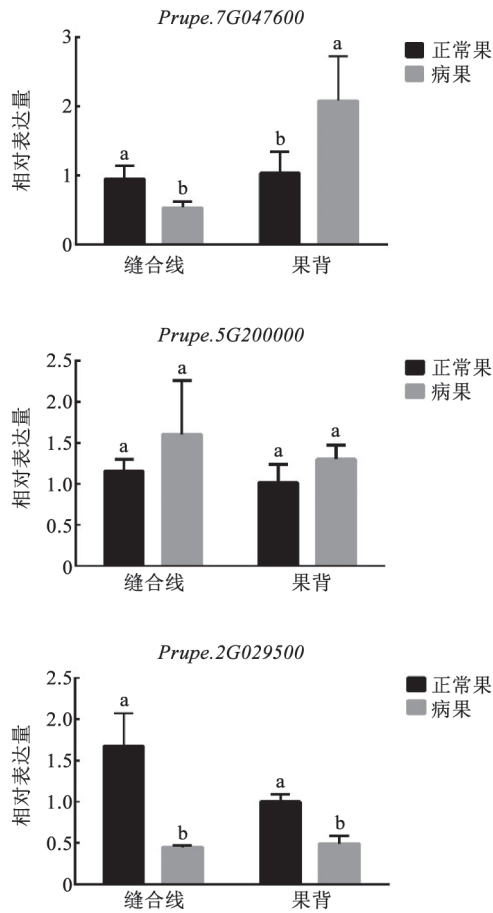
图6 *PpCaMBP*基因在正常果及病果不同部位的表达分析

Fig.6 Expression analysis of *PpCaMBP* genes in different parts of normal and diseased fruits

同一部位的柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$)。

和*Prupe.5G200000*基因的表达, TFP及Ca+TFP处理抑制基因表达; 3种处理降低了*Prupe.2G029500*基因表达。

2.5 *PpCaMBP*基因在‘肥城’桃中的组织特异性表达分析

对红里和白里‘肥城’桃进行组织特异性表达分析, 表明*Prupe.7G047600*在红里各器官中的表达量均低于白里(根除外), 花芽最为明显(红里仅为白里的约30%); *Prupe.5G200000*在两品系各组织中的表达量基本一致(叶芽除外); *Prupe.2G029500*在两品系各组织中的表达量基本一致, 在根、茎、叶、花芽中有较高表达量(图8)。通过基因表达变化可以发现3个*PpCaMBP*基因在不同组织具

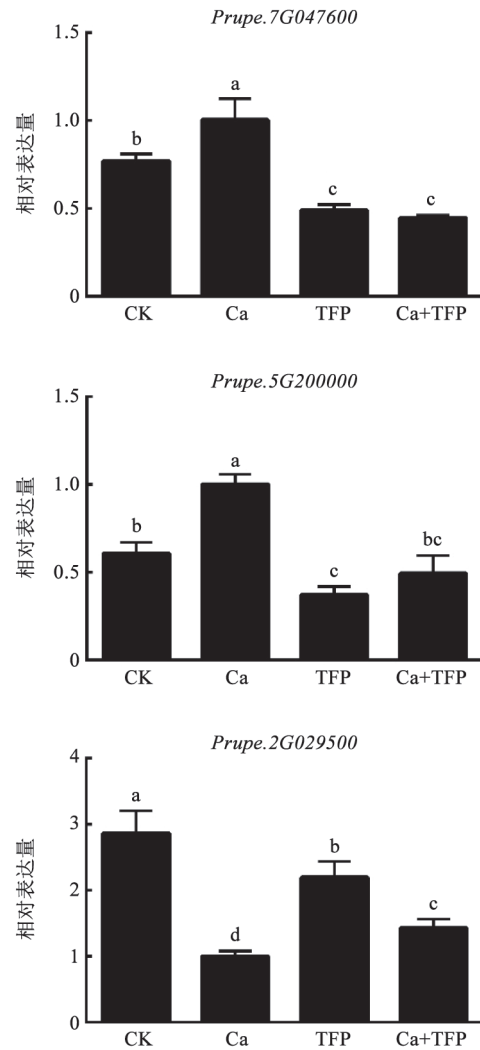
图7 *PpCaMBP*基因在不同处理下的表达分析

Fig.7 Expression analysis of *PpCaMBP* genes under different treatments

柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$)。

有不同的表达模式, 并不在果实中特异表达。

2.6 *PpCaMBP*基因在‘肥城’桃果实各发育期的表达分析

为进一步研究*PpCaMBP*基因在‘肥城’桃果实发育过程中的作用, 通过RT-PCR检测‘肥城’桃各时期的基因表达情况。图9显示, *Prupe.7G047600*在‘肥城’桃发育过程中表达量呈先下降后上升趋势, 幼果期含量最高; 2个品系间相比, 白里桃在硬核期达到最低, 红里桃在膨大期达到最低。*Prupe.5G200000*在两品系间变化趋势基本一致, 均

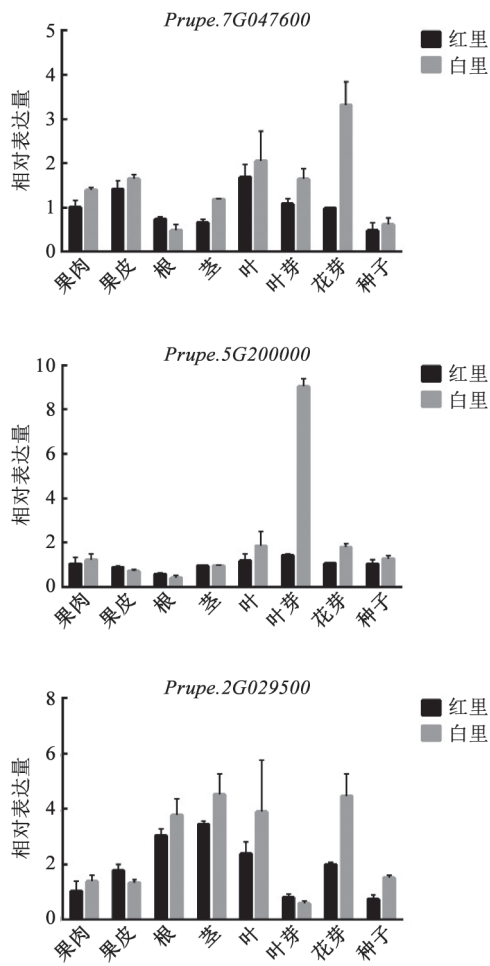


图8 *PpCaMBP*基因在不同组织中的表达分析
Fig.8 Expression analysis of *PpCaMBP* genes in different tissues

在硬核期达到最高。*Prupe.2G029500*在幼果期表达量达到最高。

3 讨论

当前,‘肥城’桃品质下降问题严重,缝合线塌陷等问题严重制约了‘肥城’桃产业的发展(罗华等2012)。前人研究发现,钙素营养的缺乏,是导致桃果实缝合线塌陷病变的重要原因。采前喷钙处理可降低细胞壁相关降解酶活性(周君等2018),减缓果实细胞壁相关果胶及纤维素降解,有效抑制果实衰老(Gayed等2017)。钙在植物生长发育过程中既是一种结构物质,又是一种重要的信号物质,通过多种途径与方式参与植物生长发育的调控。前

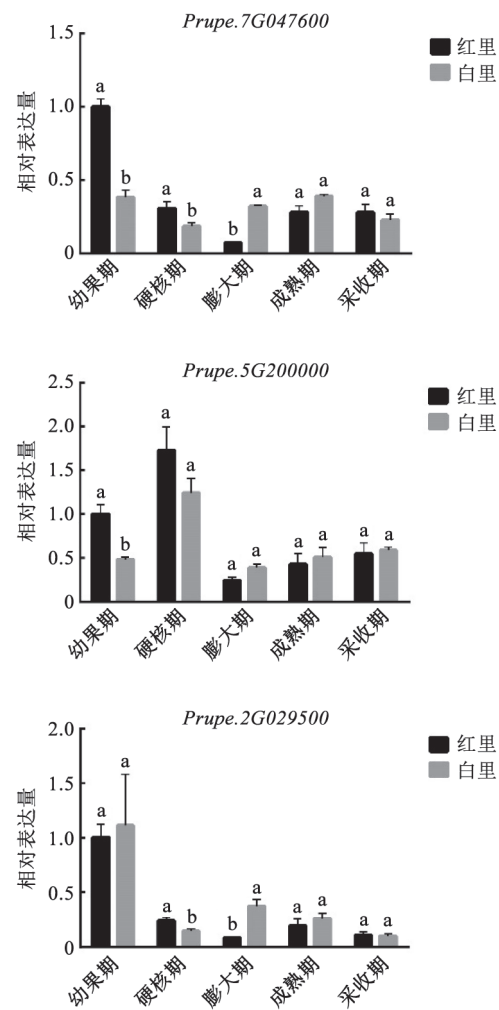


图9 *PpCaMBP*基因在‘肥城’桃各果实发育期中的表达分析
Fig.9 Expression analysis of *PpCaMBP* genes in different fruit development periods of ‘Feicheng’ peach

同一时期的柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$)。

期研究发现,外源钙介导 Ca^{2+} -CaM信号系统通过提高‘肥城’桃果实硬度、降低褐变率等途径参与‘肥城’桃缝合线塌陷的调控(张泽杰等2018)。CaMBP作为 Ca^{2+} -CaM信号系统的重要组成部分在植物体内种类繁多且分布广泛(Bender和Snedden 2013),筛选出具体相关的*PpCaMBP*对探究‘肥城’桃缝合线塌陷症状的调控机理具有重要意义。在此基础上,本试验通过PF07839探针在桃中筛选出4个CaMBP基因家族基因,通过生物信息学研究发现,4个基因均为具有钙调素结合域并定位于细胞

核的CaMBP。对4个基因进行结构及序列分析发现, 在多个保守元件中, motif 1和2可能与钙调素的结合有关, 4个基因理化性质的显著差异可能与CaMBP作用多样性有关。

Ca²⁺-CaM的作用取决于CaMBP的分布与存在状态(毛国红等2004), 蛋白的分布与基因的表达有一定相关性。本试验通过定量分析发现, 正常果与病果中*Prupe.7G047600*在缝合线及果背处的表达量变化趋势相反, 可能与‘肥城’桃缝合线塌陷症状多发于缝合线处有关。*Prupe.7G047600*在白里桃各部位的基因表达量普遍高于红里桃, 可能与白里桃不易发生缝合线塌陷症状有关, 这与薛炳焯和束怀瑞(2004)的研究结果一致。外源施用具有Ca²⁺-CaM信号拮抗作用的钙信号抑制剂TFP是目前研究钙信号的重要手段(Corpas和Barroso 2017), 本试验中, 3种处理的定量分析结果与病果中*Prupe.7G047600*基因变化趋势一致, 推测*Prupe.7G047600*可能通过钙信号参与‘肥城’桃缝合线塌陷的调控。

本试验对果实发育各时期进行定量分析, 发现红里桃的*Prupe.7G047600*表达量在膨大期与白里桃相比显著降低。王雷(2015)研究发现, 此时期果实中钙含量明显下降; Liu等(2010)发现, ‘肥城’桃缝合线塌陷症状发生于膨大期, 说明红里桃缝合线塌陷的发生与膨大期基因表达量的显著下降密切相关。综上所述, *Prupe.7G047600*可能是参与红里桃缝合线塌陷症状调控的候选基因。

参考文献(References)

- Bender KW, Snedden WA (2013). Calmodulin-related proteins step out from the shadow of their namesake. *Plant Physiology*, 163 (2): 486–495
- Corpas FJ, Barroso JB (2017). Calmodulin antagonist affects peroxisomal functionality by disrupting both peroxisomal Ca²⁺ and protein import. *J Cell Sci*, 131 (2): jcs.201467
- Gayed AANA, Shaarawi SAMA, Elkhishen MA, et al (2017). Preharvest application of calcium chloride and chitosan on fruit quality and storability of ‘Early Swelling’ peach during cold storage. *Ciênc Agrotec*, 41 (2): 220–231
- Kou X, Wu M, Li L, et al (2015). Effects of CaCl₂ dipping and pullulan coating on the development of brown spot on ‘Huangguan’ pears during cold storage. *Postharvest Biol Tec*, 99: 63–72
- Liu Z, Ma H, Zhang X, et al (2010). Peach fruit suture softening regulated by the interaction of nitrogen with cytokinin and ethylene. *Sci Hortic*, 125 (4): 654–657
- Luo H, Li M, Hu DG, et al (2012). Effects of organic fertilization on fruit yield and quality of Feicheng peach. *Plant Nutr Fert Sci*, 18 (4): 955–964 (in Chinese with English abstract) [罗华, 李敏, 胡大刚等(2012). 不同有机肥对肥城桃果实产量及品质的影响. *植物营养与肥料学报*, 18 (4): 955–964]
- Manganaris GA, Vasilakakis M, Diamantidis G, et al (2010). Effect of calcium additives on physicochemical aspects of cell wall pectin and sensory attributes of canned peach (*Prunus persica* (L.) Batsch cv. Andross). *J Sci Food Agr*, 85 (10): 1773–1778
- Manganaris GA, Vasilakakis M, Mignani I, et al (2005). The effect of preharvest calcium sprays on quality attributes, physicochemical aspects of cell wall components and susceptibility to brown rot of peach fruits (*Prunus persica* (L.) cv. Andross). *Sci Hortic*, 107 (1): 43–50
- Mao GH, Song LX, Sun DY (2004). Progress of study on calmodulin-binding proteins in plants. *J Plant Physiol Mol Biol*, 30 (5): 481–488 (in Chinese with English abstract) [毛国红, 宋林霞, 孙大业(2004). 植物钙调素结合蛋白研究进展. *植物生理与分子生物学学报*, 30 (5): 481–488]
- McAinsh MR, Pittman JK (2009). Shaping the calcium signature. *New Phytol*, 181: 275–294
- Niu Y (2008). Identification of four putative calmodulin-binding proteins in *Arabidopsis* cell membrane (dissertation). Shijiazhuang: Hebei Normal University (in Chinese with English abstract) [牛玉强(2008). 拟南芥质膜定位的4个推测的钙调素结合蛋白的分析验证(学位论文). 石家庄: 河北师范大学]
- Reddy ASN, Day IS (2001). Analysis of the myosins encoded in the recently completed *Arabidopsis thaliana* genome sequence. *Genome Biol*, 2 (7): 1–17
- Snedden WA, Fromm H (2001). Calmodulin as a versatile calcium signal transducer in plants. *New Phytol*, 151 (1): 35–66
- Wang L (2015). Effect of Ca foliar feeding at growing season on calcium dynamics and quality of Feicheng peach (*Prunus persica* (L.) Batsch cv. Feicheng) (dissertation). Taian: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [王雷(2015). 喷施钙肥对肥城桃钙动态及果实品质的影响(学位论文). 泰安: 山东农业大学]
- Wang L, Li L, Chen XD, et al (2016). Effect of foliar Ca spraying on calcium dynamics, fractions and subcellular distribution of pulp cells of Feicheng peach. *Plant Nutr Fert Sci*, 22 (4): 1102–1110 (in Chinese with English abstract) [王雷, 李玲, 陈修德等(2016). 喷施钙对肥城桃果

- 活性钙含量及其在亚细胞分布的影响. 植物营养与肥料学报, 22 (4): 1102–1110]
- Wang S, Li X, Wang K, et al (2011). Phylogenetic analysis of C, M, N and U genomes and their relationships with *Triticum* and other related genomes as revealed by LMW-GS genes at *Glu-3* loci. *Genome*, 54: 273–284
- Xue B, Shu H (2004). Changes of cell wall and hydrolases in the fruit of two cultivars of Feicheng peach during development and ripening. *Acta Horti Sin*, 31 (4): 499–501 (in Chinese with English abstract) [薛炳焯, 束怀瑞(2004). 肥城桃两品系果实细胞壁成分和水解酶活性的比较. 园艺学报, 31 (4): 499–501]
- Yang T, Poovaiah B (2003). Calcium/calmodulin-mediated signal network in plant. *Trends Plant Sci*, 8 (10): 505–512
- Zeng HQ, Zhang YX, Wang S, et al (2016). Calcium/calmodulin-mediated signal transduction system in plants. *Chin Bull Bot*, 51 (5): 705–723 (in Chinese with English abstract) [曾后清, 张亚仙, 汪尚等(2016). 植物钙/钙调素介导的信号转导系统. 植物学报, 51 (5): 705–723]
- Zhang ZJ, Fu XL, Song WL, et al (2018). Effects of exogenous calcium on the softening and browning related enzyme genes expression of ‘Feicheng’ peach. *Plant Physiol J*, 54 (12): 1820–1828 (in Chinese with English abstract) [张泽杰, 付喜玲, 宋文亮等(2018). 外源钙对‘肥城桃’软化及褐变相关酶基因表达的影响. 植物生理学报, 54 (12): 1820–1828]
- Zhou J, Xiao W, Chen XD, et al (2018). Effects of spraying calcium on the postharvest storability of ‘Whangkeumbae’ pear during young fruit period. *Plant Physiol J*, 54 (6): 1038–1044 (in Chinese with English abstract) [周君, 肖伟, 陈修德等(2018). 幼果期喷钙对‘黄金梨’采后果实贮藏性能的影响. 植物生理学报, 54 (6): 1038–1044]

Sequence and expression analyses of suture line collapse-related *PpCaMBPs* in ‘Feicheng’ peach

ZHANG Ze-Jie^{1,2,3}, FU Xi-Ling^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}, LI Ling^{1,2,3}, GAO Dong-Sheng^{1,2,3}, LI Dong-Mei^{1,2,3,*}, CHEN Xiu-De^{1,2,3,*}

¹State Key Laboratory of Crop Biology, Taian, Shandong 271018, China

²Shandong Collaborative Innovation Center for Fruit and Vegetable Production with High Quality and Efficiency, Taian, Shandong 271018, China

³College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China

Abstract: The collapse of ‘Feicheng’ peach (*Prunus persica*) suture line is a common disease in peach production and is often considered to be closely related to the regulation of calcium signaling. As an important component of calcium signaling system, calmodulin-binding protein (CaMBP) is a key factor in studying the mechanism of action of calcium signaling. In this study, four *PpCaMBP* genes were found in peaches by PF07839 probe. Subcellular localization prediction, domain, phylogenetic tree and other bioinformatic analyses were performed under Ca²⁺ (calcium nitrate solution), trifluoperazine (TFP solution), Ca²⁺+TFP and water (blank control) treatments. Bioinformatic analysis found that all four CaMBPs are localized in the nucleus, and *Prupe.7G047600* and cherry *pav sc0001869.1.g380.1.mk* have a close genetic relationship. Quantitative analysis showed that *Prupe.7G047600* showed lower expression at the suture line in diseased fruits. Compared to the Baili which is not susceptible to disease, the expression of *Prupe.7G047600* is generally lower in all parts of Hongli peach; Ca²⁺ treatment promoted the expression of *Prupe.7G047600*; and *Prupe.7G047600* may be a candidate gene involved in the regulation of ‘Feicheng’ peach suture line collapse symptom.

Key words: ‘Feicheng’ peach; *PpCaMBP*; bioinformatic analysis; expression analysis

Received 2019-01-15 Accepted 2019-06-11

This work was supported by the Shandong Forestry Science and Technology Innovation Project (LYCX04-2018-21), and Shandong Province Modern Agricultural Industry Technology System Innovation Team: Cultivation, Soil and Fertilizer (SDAIT-06-01).

*Co-corresponding authors: Li DM (dml2002@163.com), Chen XD (chenxiude@163.com).