



## 超表达枳 $\beta$ -淀粉酶基因( *PtrBAM1* ) 对烟草不同糖和有机酸的影响

肖 畅<sup>1,2</sup>, 彭 婷<sup>2</sup>

(1. 湖北广播电视大学 导学中心, 武汉 430000; 2. 赣南师范大学 生命科学学院, 江西赣州 341000)

**摘 要** 利用气相色谱法测定低温处理下 3 个 *PtrBAM1* 超表达烟草株系(F6、F11、F25)与两个对照组(空载 1301 和野生型 WT)烟草中可溶性糖和有机酸的含量,旨在从改变植株糖酸含量的角度解析 *PtrBAM1* 的抗寒功能。结果表明:正常条件下超表达株系的  $\beta$ -淀粉酶活性及果糖、蔗糖、柠檬酸、苹果酸和奎宁酸含量均显著高于对照,2 °C 低温处理 6 h、1 d、3 d 后超表达株系的  $\beta$ -淀粉酶活性、果糖含量均显著高于 2 个对照组。F6、F11、F25 葡萄糖含量在 6 h~1 d 时有一个骤升的过程,而柠檬酸含量一直显著高于 1301 和 WT,苹果酸和奎宁酸含量除 1 d 外,其他时间点含量均显著高于对照。由此可见, *PtrBAM1* 在低温处理下可能通过改变糖酸代谢途径增强植株的抗寒性。

**关键词** 烟草;柑橘;低温;葡萄糖;果糖;蔗糖;苹果酸;柠檬酸;奎宁酸

**中图分类号** S666.9

**文献标志码** A

**文章编号** 1004-1389(2019)12-2005-06

低温胁迫常常引起植物新陈代谢的剧烈变化,酶活性和反应速率普遍降低,代谢物得到重新配置。低温驯化时,特定代谢产物如碳水化合物、氨基酸、有机酸等在植物体内积累,其有利于增强植株的耐寒性<sup>[1]</sup>。

淀粉是植物体内的主要碳水化合物,常见于根、根茎、茎、块茎和种子等储藏器官<sup>[2]</sup>。淀粉的合成主要是利用光合作用固定二氧化碳,并暂时存储在叶绿体中,这种在 24 h 内合成和降解的淀粉被称为“暂时性淀粉”<sup>[3]</sup>。主要参与淀粉水解途径的 5 种酶有  $\alpha$ -淀粉酶( $\alpha$ -amylase),  $\beta$ -淀粉酶( $\beta$ -amylase, BAM)、极限糊精酶(limit dextrinase)、 $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta$ -glucosidase)和  $\alpha$ -葡聚糖磷酸化酶( $\alpha$ -glucan phosphorylase)<sup>[4]</sup>。淀粉水解产生的代谢物可用于谷物萌发、幼苗生长、胚乳发育以及对非生物胁迫的反应等<sup>[5]</sup>。有研究<sup>[5]</sup>表明,淀粉水解代谢途径的主要酶为 BAM,主要产物为  $\beta$ -麦芽糖,其迅速被转化为葡萄糖,用于蔗糖的合成,从而将叶绿体中的淀粉降解与细胞质中的糖代谢联系起来。

在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中已经鉴

定有 9 个 BAMs<sup>[6]</sup>,香蕉(*Musa nana*)中有 16 个 BAMs<sup>[7]</sup>,白梨(*Pyrus bretschneideri*)中 17 个 BAMs<sup>[4]</sup>,枳(*Poncirus trifoliata*)中有 8 个 BAMs<sup>[8]</sup>。其中, AtBAM3 和 *PtrBAM1* 分别是拟南芥和枳叶片叶绿体中夜间降解淀粉的主要水解酶<sup>[9]</sup>。BAM 不仅是植物中重要的淀粉水解酶,在植物非生物胁迫反应中也具有重要作用。研究表明,BAMs 能够通过促进活性氧的清除和增加可溶性糖类的含量以提高植株的抗胁迫能力<sup>[9-10]</sup>。可溶性糖一方面作为重要的渗透保护剂和相容性溶质以减轻不良环境压力对植物的影响<sup>[11]</sup>,另外一方面可作为信号分子与脱落酸(ABA)依赖的信号通路相互作用,激活应激反应级联中的下游成分<sup>[12]</sup>。有机酸的积累和代谢受多种环境因素的调节,但 BAM 对有机酸的影响目前鲜见报道。

尽管 BAM 在模式植物中已经被鉴定,但是在多年生果树中的抗非生物胁迫研究仍然较少。柑橘是一种亚热带果树,性喜温暖不耐寒霜,近年来随着柑橘的广泛种植和全球环境的不断恶化,持续低温以及春季“倒春寒”天气成为制约柑橘产

收稿日期:2019-09-09 修回日期:2019-10-18

基金项目:江西省自然科学基金(20171BAB204024)。

第一作者:肖 畅,女,硕士研究生,讲师,从事果树抗逆研究。E-mail: 240024023@qq.com

通信作者:彭 婷,女,博士,副教授,从事柑橘遗传育种研究。E-mail: ivypeng966@yahoo.com

业发展的一大不利因素。研究柑橘在低温条件下的响应机制,提高其抗寒性具有重要意义。Peng 等<sup>[8]</sup>从枳中克隆了与 *AtBAM3* 高度同源的 *PtrBAM1*,该基因受到 CBF(C-repeat-binding factor)的直接诱导,通过调节可溶性糖的整体水平,在耐寒性过程中发挥重要作用。本研究在已部分鉴定 *PtrBAM1* 抗寒功能的前提下,利用 *PtrBAM1* 超表达烟草,测定低温条件下超表达 *PtrBAM1* 对烟草中  $\beta$ -淀粉酶活性、可溶性糖和有机酸含量的影响,进一步解析 *PtrBAM1* 的功能。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

参试材料为野生型烟草 nud、实验室前期获得的 3 个 *PtrBAM1* 超表达烟草株系 F6、F11、F25 及转化空载株系 1301。以野生型 nud 和空载 1301 作为 2 个对照。

### 1.2 植株生长条件

盆栽种植的烟草置于智能人工气候箱(HP400G3-C 型),光期/暗期为 16 h/8 h,温度 23 ℃。

### 1.3 材料处理

对 2 个月苗龄的 nud、1301、F6、F11、F25 烟草进行 2 ℃ 低温处理,在 0 h、6 h、1 d、3 d、5 d 时取样,叶片分装于取样袋后在液氮中速冻,置于 -80 ℃ 冰箱,备用。

### 1.4 $\beta$ -淀粉酶活性与糖、酸含量的测定

采用 Laby 等<sup>[13]</sup>的方法测定  $\beta$ -淀粉酶含量。采用米兰芳<sup>[14]</sup>气相色谱法测定烟草中葡萄糖、蔗糖、果糖、苹果酸、柠檬酸,奎宁酸含量,仪器为 HP7890A 型气相色谱仪。

### 1.5 统计分析

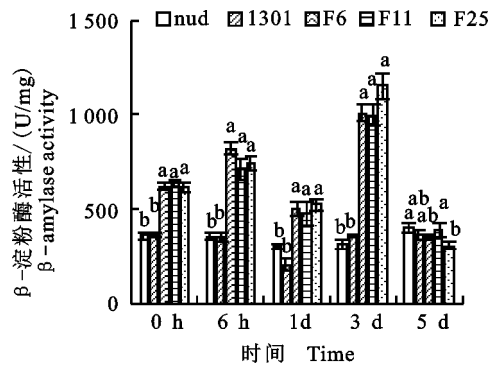
所有测定数据均为 3 次重复的平均值。使用 SAS 8.1 软件对数据进行统计,用 *t* 检验法进行显著性差异分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫下不同烟草株系 $\beta$ -淀粉酶活性检测结果

不同烟草株系在低温下其  $\beta$ -淀粉酶活性如图 1 所示,可以看出,3 个超表达株系的  $\beta$ -淀粉酶活性在正常情况下(0 h)、低温处理 6 h、1 d 以及 3 d 均显著高于 nud、1301 两个对照组,并且随着低温时间的延长,其活性在 1 d 到达最高峰,随后下

降,到第 5 天时,超表达株系与对照相比酶活性无显著差异。



数据为“平均值±标准误”;相同字母间代表同一处理时间点不同株系间无差异,不同字母代表差异显著( $P < 0.05$ )。下同 Data were “mean ± SE”; different letters indicated significant difference among different lines at the same time point ( $P < 0.05$ ). The same below

图 1 2 ℃ 处理下超表达烟草(F6、F11 和 F25)与对照(nud 和 1301) $\beta$ -淀粉酶活性比较

Fig. 1  $\beta$ -amylase activity of the overexpressing lines (F6, F11, F25) and controls (nud, 1301) exposed to 2 °C treatment

### 2.2 低温胁迫下不同烟草株系糖含量的差异性分析

不同烟草株系在低温下其糖代谢的差异性如图 2 所示。0 h 时,超表达株系的果糖和蔗糖含量显著高于对照,而葡萄糖含量显著低于对照( $P < 0.05$ )。从单个糖来看,除 3 d 和 5 d 外,超表达株系果糖含量均显著高于两个对照组,总趋势为 0 h 到 6 h 下降后趋于平缓(图 2-A)。由图 2-B 可知,在低温处理下,对照组葡萄糖含量没有显著变化,超表达株系烟草的葡萄糖含量在 6 h~1 d 时有一个骤升的过程,1 d 与 6 h 相比增加 94.24%,说明在低温胁迫前期,超表达烟草通过迅速提高葡萄糖含量来响应低温胁迫。由图 2-C 可知,5 个烟草株系蔗糖含量均在第 1 天时达到峰值,并且超表达株系显著低于两个对照,在其他时间点与对照无显著差异。综上所述,在低温胁迫下超表达 *PtrBAM1* 可能通过显著提高烟草幼苗内葡萄糖的含量以响应低温胁迫。

### 2.3 低温胁迫下不同烟草株系有机酸含量的差异性分析

不同烟草株系在低温下有机酸代谢的差异如图 3 所示。低温 0 h、6 h 和 3 d,超表达烟草中苹果酸含量均显著高于 2 个对照(图 3-A)。对照

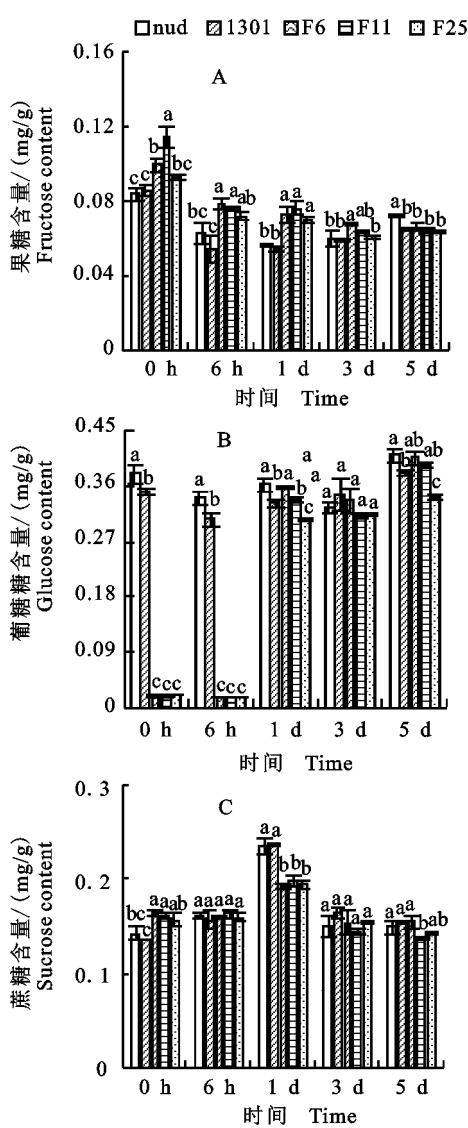


图 2 2 °C 处理下超表达烟草 (F6、F11 和 F25) 与对照 (nud 和 1301) 果糖、葡萄糖、蔗糖含量比较

Fig. 2 The content of fructose, glucose and sucrose of the overexpressing lines (F6, F11, F25) and controls (nud, 1301) exposed to 2 °C treatment

和超表达株系的苹果酸含量都是未经过低温处理时含量最高,之后逐渐下降,第 5 天已无法检测到(图 3-A)。在低温胁迫条件下,3 个超表达株系柠檬酸含量始终显著高于 2 个对照(图 3-B)。在低温处理初期(0~6 h),超表达烟草株系奎宁酸含量显著高于对照组,低温处理 3 d 和 5 d 均无法检测到(图 3-C)。综上所述,在低温处理下,有机酸含量整体下降,但超表达 *PtrBAM1* 烟草可能因为在 0 h 的有机酸含量更高而抗寒性更强。

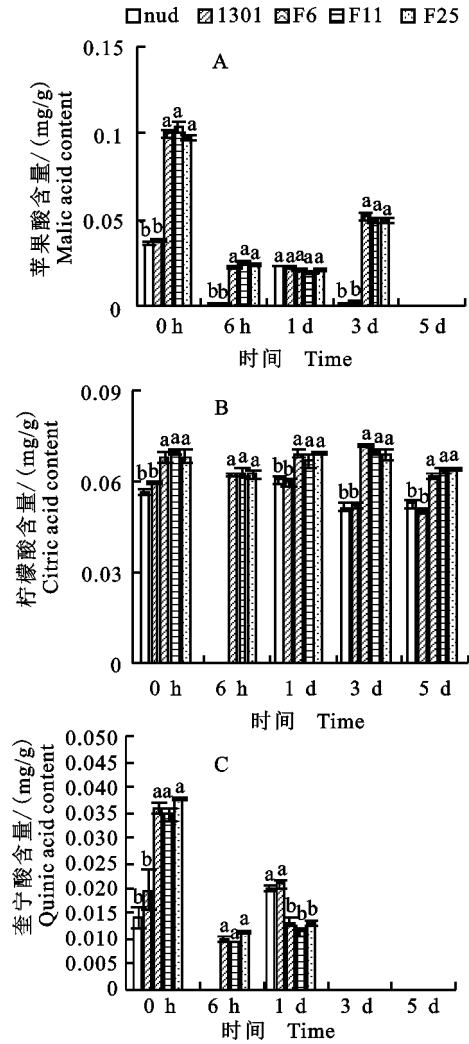


图 3 2 °C 处理下超表达烟草 (F6、F11 和 F25) 与对照 (nud 和 1301) 苹果酸、柠檬酸、奎宁酸含量比较

Fig. 3 The content of malic acid, citric acid, quinic acid the overexpressing lines (F6, F11, F25) and controls (nud, 1301) exposed to 2 °C treatment

### 3 讨论

在长期的进化过程中,植物演化出了一系列复杂的机制来应对恶劣环境,而糖代谢和碳分配在植物低温驯化过程中起着重要作用<sup>[15-16]</sup>。糖代谢是一个复杂的酶促反应,涉及如蔗糖、葡萄糖、果糖等多种可溶性糖,其可增加细胞的渗透调节能力,在胁迫中起着积极的作用,是植物响应低温处理最重要的初生代谢物<sup>[17-20]</sup>。

拟南芥在低温胁迫下增加的第一批碳水化合物是由淀粉经 BAM 水解产生的麦芽糖和麦芽三糖,接着是葡萄糖 6-磷酸和果糖 6-磷酸,然后

是蔗糖、葡萄糖和果糖<sup>[21]</sup>,具体哪种糖在冷胁迫中起主要作用仍没有定论。黑麦草植株暴露于低温下 8 h,其内源性蔗糖的含量增加了 10 倍左右<sup>[22]</sup>。小于 10 °C 的低温贮藏条件下,马铃薯块茎中可溶性糖如蔗糖、葡萄糖和果糖的含量显著增加,温度越低,可溶性糖含量越高<sup>[23]</sup>。拟南芥在 4 °C 低温胁迫下,蔗糖显著增加,葡萄糖、果糖有少量增加,淀粉量轻微降低<sup>[24]</sup>。总的来说,可溶性糖在低温胁迫下会明显地积累,糖的类型取决于植物种类和胁迫的类型。本研究测定了低温处理下 *PtrBAM1* 超表达系烟草葡萄糖、蔗糖和果糖的含量,其中葡萄糖含量在 6 h~1 d 时有一个骤升的过程。然而蔗糖在超表达烟草株系含量与对照组没有显著差异,表明超表达 *PtrBAM1* 没有促进蔗糖的积累,可能通过产生葡萄糖起作用,这与在麻风树幼苗中的研究结果相似<sup>[25]</sup>。Yu 等<sup>[26]</sup> 也认为葡萄糖、果糖等单糖作为能源和渗透调节剂,而蔗糖等双糖常常是植物运输和储存碳水化合物等主要形式,说明不同植物种类可能会积累不同的代谢物以适应胁迫。另一方面,在低温处理后期,超表达烟草与对照的果糖(5 d)和葡萄糖(3 d)含量差异不显著,可能 *PtrBAM1* 在抗低温胁迫中对可溶性糖代谢的影响发生在早期阶段。本研究中 3 种糖含量的测定表明超表达 *PtrBAM1* 低温胁迫时促进产生的可溶性糖主要成分是葡萄糖,超表达烟草通过迅速提高葡萄糖含量来响应低温胁迫。

有机酸(苹果酸、柠檬酸等)主要来源于三羧酸循环和乙醛酸循环的中间产物,在植物的呼吸作用和光合代谢中起着至关重要的作用,所以在高温处理下由于代谢损伤和光呼吸通量变化导致大豆叶片中柠檬酸、苹果酸等有机酸含量显著降低<sup>[27]</sup>。番茄低温寡照处理下,根系有机酸分泌量显著降低<sup>[28]</sup>。本研究中在低温处理下,有机酸含量也是整体下降,其中苹果酸和奎宁酸经历了一个下降—升高—再下降的过程,这与番茄果实<sup>[29]</sup>。 *PtrBAM1* 超表达烟草在 0 h 时苹果酸、柠檬酸和奎宁酸含量都显著高于对照,低温开始后苹果酸和奎宁酸都急剧下降。前期研究已证明 *PtrBAM1* 超表达烟草较对照更为抗寒<sup>[8]</sup>,可能是因为正常条件下超表达株系有机酸含量更高,因为有机酸一方面能够提高光合效率,另一方面可以调节细胞的 pH,可能在提高植物的抗逆性中

起一定作用<sup>[30-32]</sup>。

## 4 结论

综上所述,正常条件下 *PtrBAM1* 超表达烟草的果糖、蔗糖、苹果酸、柠檬酸、奎宁酸含量及  $\beta$ -淀粉酶活性显著高于对照,低温处理后超表达烟草  $\beta$ -淀粉酶活性和葡萄糖含量显著增加,其他糖和有机酸含量都发生了改变,表明 *PtrBAM1* 在低温处理下可能通过改变糖酸代谢途径增强植株的抗寒性。具体的作用机制还有待进一步研究。

### 参考文献 Reference:

- [1] KISHORE K A, JALEEL C A, MANIVANNAN P, *et al.* Comparative effects of different triazole compounds on growth, photosynthetic pigments and carbohydrate metabolism of *Solenostemon rotundifolius* [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2007, 60(2): 207-212.
- [2] SANTELIA D, ZEEMAN S C. Progress in *Arabidopsis* starch research and potential biotechnological applications [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 22(2): 271-280.
- [3] THALMANN M, SANTELIA D. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress [J]. *New Phytologist*, 2017, 214(3): 943-951.
- [4] ZHAO L Y, GONG X, GAO J Z, *et al.* Transcriptomic and evolutionary analyses of white pear (*Pyrus bretschneideri*)  $\beta$ -amylase genes reveals their importance for cold and drought stress responses [J]. *Gene*, 2019, 689(20): 102-113.
- [5] ZANELLA M, BORGHI G L, PIRONE C, *et al.*  $\beta$ -amylase 1 (BAM1) degrades transitory starch to sustain proline biosynthesis during drought stress [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(6): 1819-1826.
- [6] SMITH S M, FULTON D C, CHIA T, *et al.* Diurnal changes in the transcriptome encoding enzymes of starch metabolism provide evidence for both transcriptional and posttranscriptional regulation of starch metabolism in *Arabidopsis* leaves [J]. *Plant Physiology*, 2004, 136(1): 2687-2699.
- [7] MIAO H X, SUN P G, MIAO Y L, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of the  $\beta$ -amylase genes strongly associated with fruit development, ripening, and abiotic stress response in two banana cultivars [J]. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 2016, 3(4): 346-356.
- [8] PENG T, ZHU X F, DUAN N, *et al.* *PtrBAM1*, a  $\beta$ -amylase-coding gene of *Poncirus trifoliata*, is a CBF regulon member with function in cold tolerance by modulating soluble sugar levels [J]. *Plant Cell Environment*, 2014, 37(12): 2754-2767.
- [9] WANG S M, LUE W L, EIMERT K, *et al.* Phytohormone-regulated  $\beta$ -amylase gene expression in rice [J]. *Plant Mo-*

- molecular Biology*, 1996, 31(5): 975-982.
- [10] MONROE J D, STORM A R, BADLEY E M, *et al.*  $\beta$ -Amylase 1 and  $\beta$ -Amylase 3 are plastidic starch hydrolases in *Arabidopsis* that seem to be adapted for different thermal, pH, and stress conditions [J]. *Plant Physiology*, 2014, 166(4): 1748-1763.
- [11] KRASENSKY J, JONAK C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(4): 1593-1608.
- [12] ROOK F, HADINGHAM S A, LI Y, *et al.* Sugar and ABA response pathways and the control of gene expression [J]. *Plant Cell & Environment*, 2006, 29(3): 426-434.
- [13] LABY R J, KIM D, GIBSON S I. The ram1 mutant of *Arabidopsis* exhibits severely decreased  $\beta$ -amylase activity [J]. *Plant Physiology*, 2001, 127(4): 1798-1807.
- [14] 米兰芳. 橙汁加工品种综合品质分析与评价 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- MI L F. Comprehensive analysis and evaluation of quality of orange juice processing cultivars [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009.
- [15] HURRY V, DRUART N, CAVACO A, *et al.* Photosynthesis at Low Temperatures: a Case Study with *Arabidopsis* [M]. Springer US: Plant Cold Hardiness, 2002: 161-179.
- [16] ZHAO L Y, YANG T Y, XING C H, *et al.* The  $\beta$ -amylase PbrBAM3 from pear (*Pyrus betulaefolia*) regulates soluble sugar accumulation and ROS homeostasis in response to cold stress [J]. *Plant Science*, 2019, 287: 110184.
- [17] SICHER R. Carbon partitioning and the impact of starch deficiency on the initial response of *Arabidopsis* to chilling temperatures [J]. *Plant Science*, 2011, 181(2): 167-176.
- [18] CHEN Z H, CUIN T A, ZHOU M, *et al.* Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58: 4245-4255.
- [19] 侯 娟. 马铃薯低温糖化相关淀粉酶基因的功能鉴定及机制解析 [D]. 武汉, 华中农业大学, 2017.
- HOU J. Function characterization and mechanism dissection of the amylase genes related to cold-induced sweetening in potato [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [20] KAPLAN F, GUY C L. RNA interference of *Arabidopsis* beta-amylase 8 prevents maltose accumulation upon cold shock and increases sensitivity of PSII photochemical efficiency to freezing stress [J]. *Plant Journal*, 2005, 44(5): 730-743.
- [21] KAPLAN F, KOPKA J, SUNG D Y, *et al.* Transcript and metabolite profiling during cold acclimation of *Arabidopsis* reveals an intricate relationship of cold-regulated gene expression with modifications in metabolite content [J]. *Plant Journal*, 2007, 50(6): 967-981.
- [22] POLLOCK C J. Sucrose accumulation and the initiation of fructan biosynthesis in *Lolium temulentum* L. [J]. *New Phytologist*, 1984, 96(4): 527-534.
- [23] LIN Q, XIE Y J, GUAN W Q, *et al.* Combined transcriptomic and proteomic analysis of cold stress induced sugar accumulation and heat shock proteins expression during postharvest potato tuber storage [J]. *Food Chemistry*, 2019, 297: 124991.
- [24] USADEL B, BLÄSING O E, GIBON Y, *et al.* Multilevel genomic analysis of the response of transcripts, enzyme activities and metabolites in *Arabidopsis* rosettes to a progressive decrease of temperature in the non-freezing range [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2008, 31(4): 518-547.
- [25] WANG HAIBO, GONG MING, XIN HU, *et al.* Effects of chilling stress on the accumulation of soluble sugars and their key enzymes in seedlings [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2018, 24(5): 857-865.
- [26] YU J J, DU H M, XU M, *et al.* Metabolic responses to heat stress under elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration in a cool-season grass species [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2012, 137(4): 221-228.
- [27] SICHER R C. Temperature shift experiments suggest that metabolic impairment and enhanced rates of photorespiration decrease organic acid levels in soybean leaflets exposed to supra-optimal growth temperatures [J]. *Metabolites*, 2015, 5(3): 443-454.
- [28] 李煜姗, 李 平, 杨再强, 等. 低温寡照影响番茄幼苗根系有机酸代谢和养分吸收 [J]. 中国农业气象, 2019, 40(8): 512-522.
- LI Y SH, LI P, YANG Z Q, *et al.* Low temperature and low irradiation affected the metabolism of low-molecular-weight organic acids and nutrients uptake in tomato seedling root [J]. *Chinese Journal of Agrometeorology*, 2019, 40(8): 512-522.
- [29] ZHANG W F, GONG Z H, WU M B, *et al.* Integrative comparative analyses of metabolite and transcript profiles uncovers complex regulatory network in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit undergoing chilling injury [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 4470.
- [30] TIMPA J D, BURKE J J, QUISENBERRY J E, *et al.* Effects of water stress on the organic acid and carbohydrate compositions of cotton plants [J]. *Plant Physiology*, 1986, 82(3): 724-728.
- [31] MARÍA L F F, PEROTTI V, FIGUEROA C M, *et al.* Carbohydrate metabolism and fruit quality are affected in frost-exposed Valencia orange fruit [J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 128(2): 224-236.
- [32] KOCHIAN L V, PIEROS M A, LIU J, *et al.* Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2015, 66(1): 571-598.

## Overexpressing a $\beta$ -Amylase Gene, *PtrBAMI*, Changes the Contents of Soluble Sugars and Organic Acids in Tobacco

XIAO Chang<sup>1,2</sup> and PENG Ting<sup>2</sup>

(1. Learning Center, Hubei Radio and TV University, Wuhan 430000, China;

2. College of Life Sciences, Gannan Normal University, Ganzhou Jiangxi 341000, China)

**Abstract** Three *PtrBAMI*-overexpressing tobacco lines were created in our previous studies: F6, F11, F25. In the current experiment, the contents of different sugars and organic acids in cold-treated F6, F11, F25, 1301 (the empty vector line) and nud (the wild type) were analyzed via GC-MS. Results showed that, under normal condition,  $\beta$ -amylase activity, the contents of fructose, sucrose, citric acid, malic acid and quinine acid in F6, F11, and F25 lines were significantly higher than those of 1301 and nud. After 2 °C treatment for 6 h, 1 d and 3 d,  $\beta$ -amylase activity and the content of fructose in the three overexpressing lines were significantly higher than those of the 1301 and nud lines. The content of glucose increased sharply from 6 h–1 d cold treatment. Throughout the 2 °C treatment, the content of citric acid in F6, F11, and F25 lines were constantly and significantly higher than that of 1301 and nud lines, so were the content of malic acid and quinic acid except at the timepoint of 1 d. In conclusion, *PtrBAMI* could change the contents of soluble sugars and organic acids in cold-challenged plant, thus increasing the cold tolerance of plant, at least in part, via modification of the sugar and organic acid metabolism.

**Key words** Tobacco; Citrus; Low temperature; Glucose; Fructose; Sucrose; Malic acid; Citric acid; Quinic acid

**Received** 2019-09-09

**Returned** 2019-10-18

**Foundation item** Natural Science Foundation of Jiangxi Province (No. 20171BAB204024).

**First author** XIAO Chang, female, master, lecturer. Research area: abiotic stress resistance of fruit trees. E-mail: 240024023@qq.com

**Corresponding author** PENG Ting, female, Ph. D, associate professor. Research area: citrus genetic breeding. E-Mail: ivypeng966@yahoo.com

(责任编辑:郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)