

宗琪, 张生才, 范国泰, 等. 聚- γ -谷氨酸对柑橘苗木性状和 GABA 的影响[J]. 华中农业大学学报, 2020, 39(5): 108-114.

DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2020.05.015

聚- γ -谷氨酸对柑橘苗木性状和 GABA 的影响

宗琪¹, 张生才², 范国泰², 孙萌³, 姜玲³

1. 华中农业大学农业微生物学国家重点实验室, 武汉 430070;

2. 国家现代产业技术体系福建永春芦柑综合试验站, 永春 362600;

3. 华中农业大学园艺林学学院/国家果树脱毒种质资源室内保存中心/

农业农村部华中地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 武汉 430070

摘要 通过株高、冠径及酶活的测定研究聚- γ -谷氨酸(PGA)水溶液灌根对柑橘苗木个体性状和叶片中抗性相关酶的影响, 并采用亲水相互作用色谱(HILIC LC-MS/MS)分析了 PGA 灌根前后叶片中 200 个靶向代谢物含量的变化。结果表明: PGA 处理能促进苗木株高、冠径和嫁接苗分枝数的增加; PGA 处理后, 柑橘叶片中超氧化物歧化酶(SOD, 抗氧化物保护酶)、过氧化物酶(POD, 参与过氧化产物的清理)和多酚氧化酶(PPO, 酚类物质代谢的参与酶)的活性增加; PGA 处理后, 柑橘叶片中 L-谷氨酸含量下降 73.2% 倍, 而 γ -氨基丁酸(GABA)含量增加了 1.6 倍, N6-甲基腺嘌呤含量提高 2.3 倍。靶向代谢物分析获得 109 个代谢物的定量结果, 其中, 13 种代谢物对照与处理的差异达到显著水平。

关键词 聚- γ -谷氨酸; 柑橘苗木; 靶向代谢物; γ -氨基丁酸; 抗性相关酶; 良种繁育

中图分类号 S 144 : S 666.304⁺.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2020)05-0108-07

聚- γ -谷氨酸(poly- γ -glutamic acid, PGA)是绿色安全的肥料增效剂^[1], 被广泛地应用于农业、化妆品、食品、医药等多个领域^[2-3]。PGA 在柑橘中应用可改善果实品质^[4]。PGA 降解产物为 L-谷氨酸^[1], 谷氨酸脱羧酶(GAD)可将 L-谷氨酸转化为 γ -氨基丁酸(GABA)。GABA 在植物中有多种生物功能, 如: 调节细胞环境 pH、调节碳氮营养平衡、应答环境胁迫、调控生长发育等^[5-6]。有研究证明补充外源 GABA, 可增加柑橘类植物内源 GABA、几种氨基酸和植物激素的水平^[7]。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)3 种酶活性与植物抗性相关, 可作为筛选抗性材料的生化指标之一^[8]。目前, PGA 在柑橘产业中的应用不多, 对 PGA 在柑橘苗木繁育上的应用效果以及 PGA 的作用机制仍然不清楚。本研究探讨聚- γ -谷氨酸(PGA)水溶液灌根对柑橘个体性状及抗性相关酶的影响, 并采用亲水相互作用色谱(HILIC LC-MS/MS)分析 PGA 灌根前后叶片中 200 个靶向代谢

物含量的变化, 对永春芦柑嫁接苗叶片进行靶向代谢物分析, 以期对聚- γ -谷氨酸在柑橘良种繁育上的应用提供更明确的理论依据, 也为深入地探索 PGA 的作用机制、更好地发挥 PGA 的作用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 柑橘实生苗 PGA 处理及酶活性的测定

试验在华中农业大学国家果树脱毒种质资源室内保存中心进行。柑橘品种为强德勒柚(*Citrus maxima*), 柑橘幼苗生长至 35 d 时, 分别用质量浓度 50、100、200 mg/L 的聚- γ -谷氨酸溶液浇灌, CK 组用清水浇灌。聚- γ -谷氨酸由华中农业大学农业微生物学国家重点实验室提供。

在处理后的 2、4、6 d 分别测定柚苗叶片中 3 种酶的活性。SOD 采用氮蓝四唑(NBT)法、POD 采用愈创木酚法、PPO 采用邻苯二酚法, 根据文献[9-10]的方法进行测定。

1.2 PGA 促进采穗树和嫁接苗生长的试验

试验在福建省永春绿源柑橘苗木繁育场进行。

收稿日期: 2020-03-18

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0201500); 国家自然科学基金项目(31872064)

宗琪, 工程师. 研究方向: 仪器设备的检测和分析. E-mail: zongqi@mail.hzau.edu.cn

通信作者: 姜玲, 博士, 教授. 研究方向: 果树脱毒和抗病. E-mail: jiangling@mail.hzau.edu.cn

处理方法:每次以质量浓度 200 mg/L 的 PGA 溶液灌根,平均每株 280 mL,对照为清水处理。

第 1 批试验在 3 号育苗网室中进行。根据永春芦柑(*Citrus reticulata* Banco.)苗木的原始株高分组。A 组:70~79 cm;B 组:80~89 cm;C 组:90 cm 以上。试验时间:2016 年 3 月 6 日第 1 次处理,4 月 6 日第 2 次处理,5 月 6 日观察记载株高和冠径。

第 2 批试验在 1 号育苗网室中进行。试验时间为 2016 年 4 月 6 日第 1 次处理,5 月 6 日第 2 次处理,6 月 27 日观察记载株高和分枝数。50 株永春芦柑嫁接苗用 PGA 处理,50 株用于对照试验。

试验数据使用 IBM SPSS Statistics 进行平均值的 t -检验统计学分析,以判断差异的显著水平。

1.3 靶向代谢物的 HILIC LC-MS/MS 定量分析

1)样品的制备。用 200 mg/L PGA 浇灌永春芦柑嫁接苗,每次 1 L/株,隔 30 d 处理 1 次,第 3 次处理后的 24 h 取嫁接苗叶片,用液氮冷冻,贮存于 -70°C 超低温冰箱,每个处理设 6 个生物学重复。样本加入液氮研磨后称量 80 mg,分别加入 1 mL 甲醇乙腈水溶液($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=2:2:1$),涡旋 60 s;低温超声 30 min,2 次; -20°C 放置 1 h 沉淀蛋白,过滤管过滤后于 4°C 、12 000 r/min 离心 20 min,取上清冷冻干燥。

2)色谱质谱条件。样品采用 Waters I-class 超高效液相色谱仪(Waters)进行分离。使用 AB 5500 QqQ 质谱仪(AB SCIEX)进行质谱分析。色谱条件:流动相 A 为水溶液+25 mmol/L 乙酸铵+25 mmol/L 氨水(pH 9.75),流动相 B 为乙腈。样品置于 4°C 自动进样器中,柱温 40°C ,流速为 0.3 mL/min,进样量 2 μL 。液相梯度如下:0~1 min,B 维持在 95%;1~14 min,B 从 95%线性变化到 65%;14~16 min,B 从 65%线性变化到 40%;16~18 min,B 维持在 40%;18~18.1 min,B 从 40%线性变化到 95%;18.1~23 min,B 维持在 95%。样本队列中每隔 6 个实验样本设置 1 个 QC 样本,用于检测和评价系统的稳定性及重复性。质谱条件:采用 AB 5500 QqQ 质谱仪(AB SCIEX)进行质谱分析。ESI 源条件如下:载气温度, 350°C ;干气温度, 350°C ;载气流量,11 L/min;干气流量,10 L/min;毛细管电压,4 000 V 或-3 500 V,分别为正负模式;喷嘴电压,500 V;雾化器压力,0.2 MPa。采用 MRM 模式监测,每个 MRM 离子对的停留时间

(dwell time)为 3 ms,总的循环时间为 1.263 s。

3)数据处理。采用 MRM Analyzer(R)对 200 个代谢物的 MRM 原始数据进行提取,得到各代谢物的峰面积,数据集以及数据分析过程参考 Cai 等^[11]建立的高通量靶向代谢组方法,对生物样本进行代谢谱分析,以 HILIC 超高效液相色谱-QqQ MS MRM 技术为分析平台,对 32 个 KEGG 通路中的近 200 个代谢物进行靶向定量分析,随后采用 MRMANalyzer 软件对数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 聚- γ -谷氨酸对柑橘叶片中 3 种抗性相关酶的影响

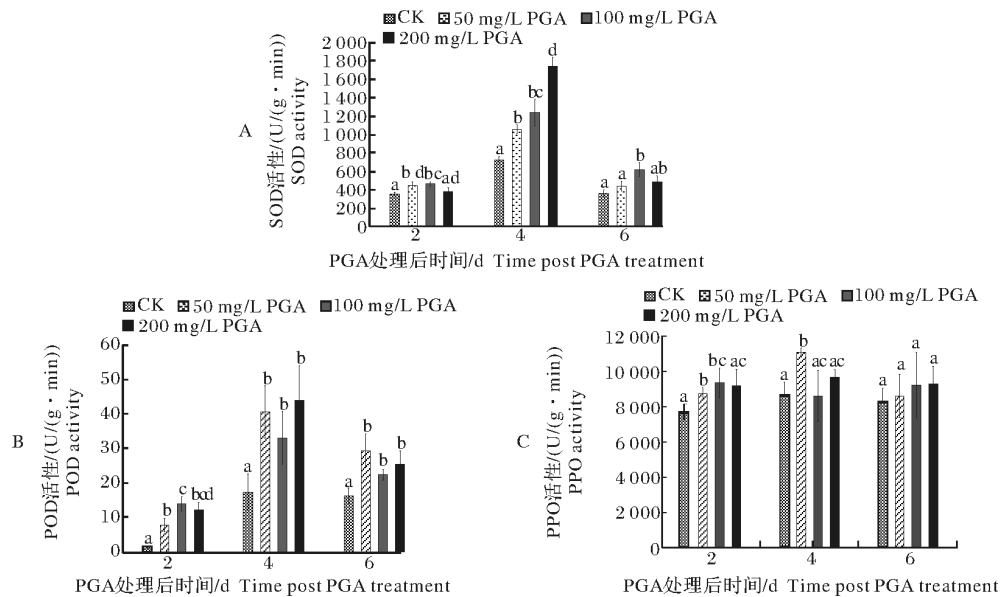
50 和 100 mg/L PGA 浇灌柚苗 2 d 后,SOD 活性均显著高于 CK;200 mg/L 的 PGA 浇灌柚苗 2 d 后,SOD 活性均显著高于 100 mg/L 的 PGA 处理。3 种质量浓度的 PGA 浇灌柚苗 4 d 后,SOD 活性均显著高于 CK,200 mg/L PGA 处理与 100 和 50 mg/L 的 PGA 处理之间也存在着显著差异。处理后 6 d,100 mg/L PGA 处理柚苗叶 SOD 活性显著高于 CK 和 50 mg/L PGA 处理(图 1A)。图 2 为柚实生苗生长情况。

3 种质量浓度 PGA 处理 2 d 后,POD 活性与 CK 均有显著差异,100 mg/L PGA 浇灌柚苗 2 d 后,POD 活性均显著高于 50 mg/L PGA 处理。3 种质量浓度的 PGA 浇灌柚苗 4 d 和 6 d 后 POD 活性均显著高于 CK(图 1B)。

50、100 mg/L 的 PGA 处理 2 d 后,PPO 活性显著高于 CK,200 mg/L 处理的柚苗 PPO 活性显著高于 50 mg/L 的 PGA 处理。50 mg/L 的 PGA 处理后 4 d,柚苗 PPO 活性显著高于 CK,100 和 200 mg/L PGA 处理后 PPO 活性均显著高于 50 mg/L PGA 处理(图 1C)。

2.2 聚- γ -谷氨酸对采穗树生长和分枝数的影响

图 3 为采穗树处理和对照实物照片,处理树叶色浓绿、枝梢生长健壮、树冠丰满,对照树长势相对较弱。在永春芦柑采穗树生长试验中,对采穗树 3 组数据进行统计分析,结果表明:A 组处理后与处理前比较,株高显著提高($P<0.05$),B 组处理后与处理前比较,株高和冠径显著提高($P<0.05$),但 C 组处理后与处理前比较差异不显著(见图 4A、B)。



不同小写字母表示在 $\alpha=0.05$ 水平差异显著。下同。Different lowercase letters in the data of the same column indicate the significance of the difference at $\alpha=0.05$. The same as below.

图 1 PGA 处理对柚苗叶片中超氧化物歧化酶(A)、过氧化物酶(B)和多酚氧化酶(C)活性的影响

Fig.1 Effects of PGA treatment on pomelo seedlings leaves' activities of superoxide dismutase(A), peroxidase(B) and polyphenol oxidase(C)



左为对照,右为 200 mg/L PGA 处理。Left:CK;Right:200 mg/L PGA treatment.

图 2 PGA 处理和对照的柚实生苗

Fig.2 Photo of pomelo seedlings after 200 mg/L

PGA treatment and control

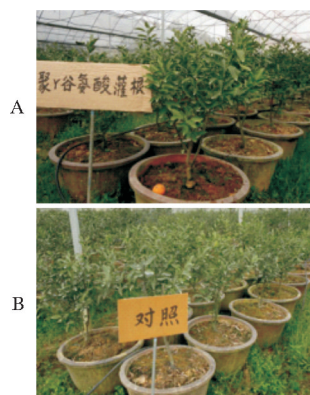
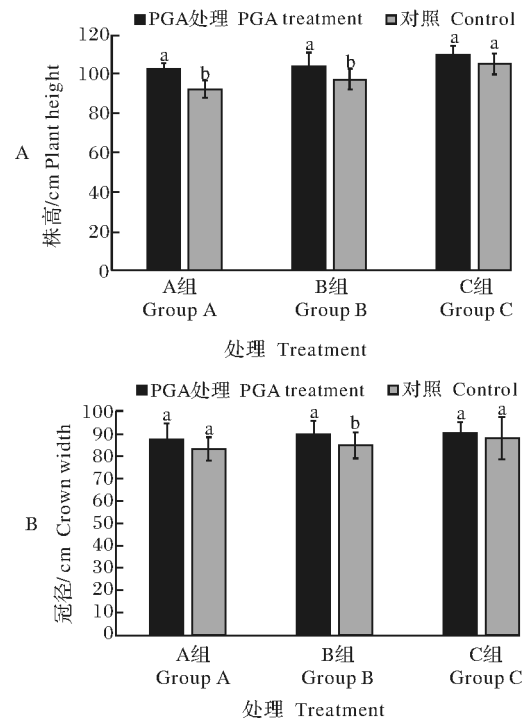


图 3 永春芦柑采穗树(A)和对照树(B)表型

Fig.3 Phenotype of Yongchun tangerine scion trees(A) and control trees(B)



A 组:株高 70~79 cm; B 组:株高 80~89 cm; C 组:株高 >90 cm. Group A:Plant height 70~79 cm; Group B:Plant height 80~89 cm; Group C:Plant height >90 cm.

图 4 永春芦柑采穗树经 PGA 处理后的株高(A)和冠径(B)的变化

Fig.4 Changes in plant height(A) and crown diameter (B) of Yongchun tangerine tree after PGA treatment

在永春芦柑无病毒嫁接苗生长试验中,200 mg/L 的 PGA 处理的苗木与对照相比,平均株高增加 12.3%,处理和对照的株高存在显著差异。分枝数从平均 3.5 枝/株增加到平均 4.8 枝/株,分枝数显著增加 38.6% ($P < 0.05$) (图 5)。根据常规苗木繁育方法,每枝接穗平均提供 10 个饱满芽,200 株苗

可以增加约 2 600 个芽。可见,PGA 处理显著增加了苗木芽数,可以提供丰富的育苗材料。

2.3 PGA 处理后叶片中 200 个靶向代谢物的定量分析

采用 HILIC LC-MS/MS 靶向代谢组学方法,对样本中的 200 种代谢物进行 MRM 分析,共检测到 109 个代谢物,这些代谢物在 QC 样本中的 RSD $< 30\%$,说明实验系统稳定可靠。对 PGA 处理和对照的显著性差异代谢物(假设概率 < 0.05 且变异位数 > 1.5)进行层次聚类(hierarchical clustering),PGA 处理的样品聚类出现在同一簇,对照的 6 个重复样本聚类出现在同一簇。同时,聚在同一簇内的代谢物具有相似的表达模式(图 6)。

在进行 PGA 处理和对照 2 组样本间的差异代谢物分析时,利用单变量分析,可以直观地显示 PGA 处理样品与对照样品之间代谢物变化的差异显著性。本研究以假设概率 < 0.05 且变异位数 > 1.5 作为显著性差异物的筛选标准进行差异代谢物表达量分析(表 1,图 5)。PGA 处理与对照相比,有 13 种代谢物表现出显著的差异,其中 N6-甲基腺嘌呤

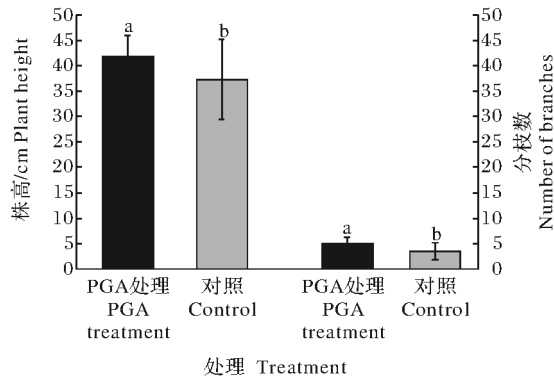
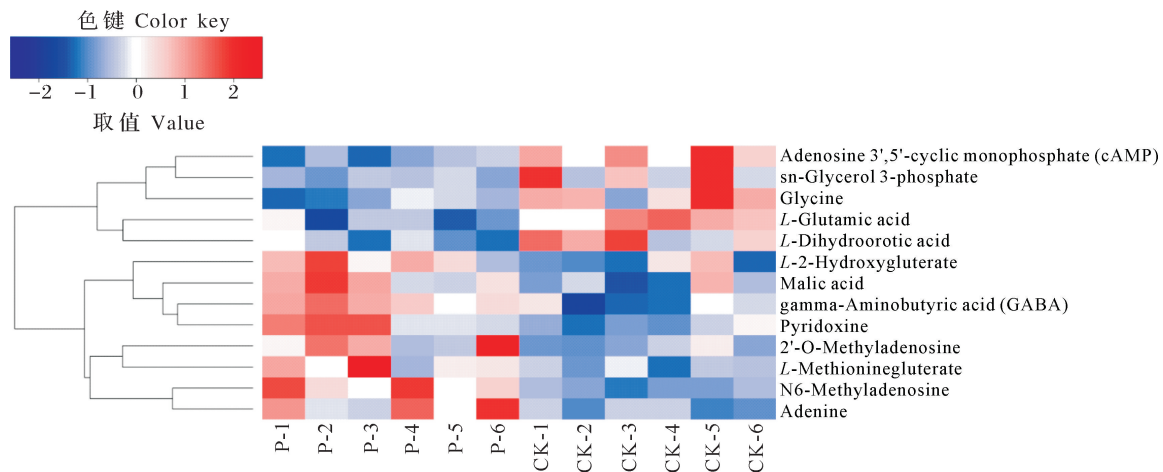


图 5 永春芦柑嫁接苗经 PGA 处理后的株高和分枝数的变化

Fig.5 Changes in plant height and number of branches in Yongchun tangerine tree after PGA treatment



红色代表上调,蓝色代表下调;颜色深浅与 Fold change 值大小相关。Red shows up-regulated, blue shows down-regulated; color depth is related to the size of the Fold change value.

图 6 PGA 处理组和对照组的差异代谢物的层次聚类结果

Fig.6 Hierarchical clustering results of different metabolites between PGA treatment group and control group

呤(N6-methyladenosine, m6A)、 γ -氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)、腺嘌呤(adenine)、吡哆醇(pyridoxine)、2'-O-甲基腺苷(2'-O-methyladenosine)、苹果酸(malic acid)、L-甲硫氨酸(L-methionine)和 L-2-hydroxyglutamate 等 8 种代谢物

上调;5'-环磷酸腺苷(adenosine 3',5'-cyclic monophosphate, cAMP)、L-谷氨酸(L-glutamic acid)、甘氨酸(glycine)、L-二氢乳清酸(L-dihydroorotic acid)和甘油-3-磷酸(sn-glycerol 3-phosphate)等 5 种代谢物下调(表 1)。

表 1 PGA 处理后差异显著的代谢物信息
Table 1 Metabolite information with significant difference after PGA treatment

编号 No.	代谢物名称 Metabolite name	KEGG 路径 KEGG	保留时间/min Retention time	相对标准 误差 RSD	变异位数 Fold change	假设概率 P-value
1	N6-甲基腺嘌呤 N6-Methyladenosine	—	3.685	0.081	2.268 ↑	0.001
2	3',5'环状单磷酸腺苷 Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate (cAMP)	C00575	7.894	0.118	0.653 ↓	0.001
3	谷氨酸 L-Glutamic acid	C00025	11.955	0.087	0.732 ↓	0.002
4	γ-氨基丁酸 Gamma-aminobutyric acid (GABA)	C00334	11.146	0.118	1.645 ↑	0.004
5	甘氨酸 Glycine	C00037	10.841	0.200	0.681 ↓	0.006
6	腺嘌呤 Adenine	C00147	4.710	0.203	1.546 ↑	0.009
7	L-二氢乳清酸 L-Dihydroorotic acid	C00337	8.600	0.122	0.616 ↓	0.012
8	吡哆醇 Pyridoxine	C00314	2.703	0.113	1.747 ↑	0.014
9	2'-O-甲基腺苷 2'-O-Methyladenosine	C04779	2.621	0.194	1.871 ↑	0.030
10	苹果酸 Malic acid	C00711	12.251	0.101	1.263 ↑	0.034
11	甘油-3-磷酸 sn-Glycerol 3-phosphate	C00093	13.256	0.197	0.373 ↓	0.036
12	L-甲硫氨酸 L-Methionineglutamate	C00073	8.266	0.155	1.654 ↑	0.038
13	L-2-羟基戊二酸 L-2-Hydroxyglutamate	C03196	12.020	0.185	1.706 ↑	0.039

注：↑表示上调，↓表示下调。Note: ↑ shows up-regulated, ↓ shows down-regulated.

3 讨 论

3.1 PGA 与柑橘苗木生长及抗逆境能力关系

本研究结果表明 PGA 能提高永春芦柑采穗树和嫁接苗的株高、冠径和分枝数,丰富柑橘育苗材料。在实生苗上的研究表明 PGA 处理能提高植株 SOD、POD、PPO3 种酶的活性,这与前人^[12-13]关于多种因素可以激发抗性相关酶的观点是一致的。超氧化物歧化酶是生物体内存在的一种抗氧化金属酶,它能够催化超氧阴离子自由基歧化生成氧和过氧化氢,在机体氧化与抗氧化平衡中起到至关重要的作用。超氧化物歧化酶和过氧化物酶是细胞内清除活性氧系统中的重要酶,能有效地阻止 O₂⁻·和 H₂O₂在植物体内积累^[14]。多酚氧化酶是植物体内普遍存在的一种末端氧化酶,其氧化产物醌类物质对病原物具有比酚类物质更强的毒性,对植物抗病起着重要的作用^[15]。

3.2 GABA 和 m6A 参与 PGA 对植物生长及抗性调节过程

m6A 是真核生物 mRNA 上含量最多的化学修饰之一,m6A 修饰是动态可逆的,可在时间和空间上被甲基转移酶和去甲基酶调控。除了 RNA 存在 m6A 修饰之外,DNA 的 m6A 也在包括秀丽隐杆线虫和果蝇在内的多细胞真核生物中被鉴定出来,并进一步在植物、小鼠和人类细胞等高等真核生物中得到鉴定。m6A 在调控 DNA 复制、转座、转录和细胞防御中起着关键作用。代谢组研究结果显示,PGA 处理植株与对照植株相比 m6A 提高了 2.3 倍,表明 PGA 与 m6A 的变化水平具有相关性,暗示 m6A 可能参与 PGA 对植物促生长的作用过程。

前人研究中 GABA 用于促进植物的生长^[16],抑制某些植物病害^[17];GABA 参与调节细胞内 pH 环境、碳氮营养平衡、抑制昆虫啃食、防止氧化胁迫、渗透调节、信号传递等在内的多种生理生化反

应^[18-22]。本研究中对柑橘嫁接苗进行PGA灌根处理,与对照植株相比L-谷氨酸下调73.2%,而GABA上调了1.6倍。在GABA含量小幅度提高的情况下,柑橘苗木各项生长指标得以提高,抗氧化能力增强且未观察到植株异常的现象。PGA处理能激发GABA含量提高,这一结果在前人的研究中还未见报道,这也为我们进一步探索PGA对植物的调节机制提供了新的方向。

参考文献 References

- [1] 陈雄,陈守文,喻子牛. 聚- γ -谷氨酸在环境中降解特性的初步研究[J]. 环境科学与技术, 2008, 30(11): 35-37. CHEN X, CHEN S W, YU Z N. Degradability of poly- γ -glutamic acid in environment[J]. Environmental science & technology, 2008, 30(11): 35-37 (in Chinese with English abstract).
- [2] 李晶博,李丁,邓毛程,等. γ -聚谷氨酸的特性、生产及应用[J]. 化工进展, 2008, 27(11): 1789-1793. LI J B, LI D, DENG M C, et al. Properties, production and application of γ -polyglutamic acid[J]. Chemical industry and engineering, 2008, 27(11): 1789-1793 (in Chinese with English abstract).
- [3] 王虹. γ -聚谷氨酸及其在水处理中的应用[J]. 化工时刊, 2009, 23(2): 59-61. WANG H. Applications of γ -PGA in water treatment[J]. Chemical industry times, 2009, 23(2): 59-61 (in Chinese with English abstract).
- [4] 黄素婵,谢金长,严翔,等. 聚- γ -谷氨酸改善赣南纽荷尔脐橙品质的研究[J]. 中国果菜, 2017, 37(5): 22-27. HUANG S S, XIE J C, YAN X, et al. Study of poly- γ -glutamic acid on the quality of Newhall Navel Orange in the south of Jiangxi Province[J]. China fruit & vegetable, 2017, 37(5): 22-27 (in Chinese with English abstract).
- [5] FAIT A, FROMM H, WALTER D, et al. Highway or byway: the metabolic role of the GABA shunt in plants[J]. Trends Plant Sci, 2007, 13(1): 1360-1385.
- [6] 宋红苗,陶跃之,王慧中,等. GABA在植物体内的合成代谢及生物学功能[J]. 浙江农业科学, 2010(2): 225-229. SONG H M, TAO Y Z, WANG H Z, et al. Synthesis metabolism of GABA in plants and its biological functions[J]. Journal of Zhejiang agricultural sciences, 2010(2): 225-229 (in Chinese).
- [7] HIJAZ F, NEHELA Y, KILLINY N. Application of gamma aminobutyric acid increased the level of phytohormones in *Citrus sinensis*[J]. Planta, 2018, 248(4): 909-918.
- [8] 袁庆华,桂枝,张文淑. 苜蓿抗感褐斑病品种内超氧化物歧化酶、过氧化物酶和多酚氧化酶活性的比较[J]. 草业学报, 2002, 11(2): 100-104. YUAN Q H, GUI Z, ZHANG W S. Comparison of the activities of SOD, POD and PPO within alfalfa cultivars resistant and susceptible to alfalfa common leaf[J]. Acta praeaculturae sinica, 2002, 11(2): 100-104 (in Chinese with English abstract).
- [9] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2006. WANG X K. Principles and techniques of plant physiological and biochemical experiments[M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2006 (in Chinese).
- [10] 刘凤权,王金生. 水杨酸对水稻叶片抗氧化酶系的影响[J]. 农业生物技术学报, 2001, 9(4): 396-399. LIU F Q, WANG J S. Influence of salicylic acid on antioxidant enzymes in rice leaves[J]. Journal of agricultural biotechnology, 2001, 9(4): 396-399 (in Chinese with English abstract).
- [11] CAI Y, WENG K, GUO Y, et al. An integrated targeted metabolomic platform for high-throughput metabolite profiling and automated data processing[J]. Metabolomics, 2015, 11(6): 1575-1586.
- [12] 刘琴,吴毅歆,薛圆,等. 一种生物诱抗剂防治黄瓜白粉病效果及对诱导酶的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(36): 367-371. LIU Q, WU Y X, XUE Y, et al. Effect of a biological resistance inducer on controlling cucumber powdery mildew and inducing enzymes activities[J]. Chinese agricultural science bulletin, 2013, 29(36): 367-371 (in Chinese with English abstract).
- [13] 闻静,赵刚,李凤兰,等. 大豆矮化突变体 IOD、POD、CAT、SOD 酶活性的研究[J]. 作物杂志, 2012(3): 53-57. WEN J, ZHAO G, LI F L, et al. Studies on the enzyme activities of IOD, POD, SOD, CAT in soybean dwarf mutant[J]. Crops, 2012(3): 53-57 (in Chinese with English abstract).
- [14] 冯坤,郑青松,俞佳虹,等. 超氧化物歧化酶的遗传特征及其在植物抗逆性中的研究进展[J]. 分子植物育种, 2017, 15(11): 4498-4505. FENG K, ZHENG Q S, YU J H, et al. The characteristics of superoxide dismutase (SOD) in evolutions and its research in plant resistance[J]. Molecular plant breeding, 2017, 15(11): 4498-4505 (in Chinese with English abstract).
- [15] WU Z, HUAN Y, LI Y, et al. Induction of the defense mechanism and antimicrobial compounds produced by *Bacillus subtilis* sl-44 on pepper (*Capsicum annuum* L.) [J/OL]. Front microbiol, 2019, 10: 2676 [2020-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6892779/>. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02676.
- [16] RAMESH S A, TYERMAN S D, XU B, et al. GABA signalling modulates plant growth by directly regulating the activity of plant-specific anion transporters [J/OL]. Nat Commun, 2015, 6: 8879 [2020-03-18]. <https://doi.org/10.1038/ncomms8879>.
- [17] AKAMA K, TAKAIWA F. C-terminal extension of rice glutamate decarboxylase (OsGAD2) functions as an autoinhibitory domain and overexpression of a truncated mutant results in the accumulation of extremely high levels of GABA in plant cells [J]. J Exp Bot, 2007, 58(10): 2699-2707.
- [18] GUT H, DOMINICI P, PILATI S, et al. A common structural basis for pH- and calmodulin-mediated regulation in plant de-

- carboxylase [J]. J Mol Biol, 2009, 392: 334-351.
- [19] SEIFIKALHOR M, ALINIAEIFARD S, HASSANIB, et al. Diverse role of γ -aminobutyric acid in dynamic plant cell responses[J/OL]. Plant cell reports, 2019, 30739138 [2020-03-18]. <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02396-z>.
- [20] SHELPI B J, BOWN A W, MCLEAN M D. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid[J]. Trends Plant Sci, 1999, 4(11): 446-452.
- [21] BOUCHE'N, FROMM H. GABA in plants: just a metabolite? [J] Trends Plant Sci, 2004, 9: 110-115.
- [22] SCOTT-TAGGART C P, VAN CAUWENBERGHE O R, MCLEAN M D, et al. Regulation of γ -aminobutyric acid synthesis in situ by glutamate availability[J]. Physiol Plant, 1999, 106(4): 363-369.

Effects of poly- γ -glutamic acid on seedlings trait and GABA of citrus

ZONG Qi¹, ZHANG Shengcai², FAN Guotai², SUN Meng³, JIANG Ling³

1. State key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. National Modern Industrial Technology System, Fujian Province Yongchun County Tangerine Comprehensive Experiment Station, Yongchun 362600, China;

3. Ministry of Education Key Laboratory of Plant Biology, Huazhong Agricultural University / Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Horticultural crop Biology and Germplasm Creation in Central China, Wuhan 430070, China

Abstract The effects of poly- γ -glutamic acid (PGA) aqueous solution irrigation on seedlings trait and resistance-related enzymes in leaves of citrus were determined by measuring plant height, crown diameter and enzyme activity. HILIC LC-MS/MS was used to analyze the changes of 200 target metabolites in leaves after irrigation of PGA. The results showed that PGA treatment increased the height, crown diameter and branch number of seedlings. The activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) in citrus leaves were increased after PGA treatment. The content of *L*-glutamate in citrus leaves decreased by 73.2%, while the content of γ -aminobutyric acid (GABA) increased by 1.6 times. The content of N6-methyl adenine increased by 2.3 times. The results of quantities of 109 metabolites analyzed by targeted metabolite showed that the difference of 13 metabolites between control and treatment was significant.

Keywords poly- γ -glutamic acid; seedling of citrus; target metabolites; GABA; resistance-related enzymes; seed breeding

(责任编辑: 张志钰)