

脯氨酸通过影响生长素途径相关信号抑制拟南芥根的生长

王翠平*, 陈建伟, 乔改霞

宁夏林业研究院种苗生物工程国家重点实验室, 银川750004

摘要: 脯氨酸积累在逆境中对植物中有保护作用, 但是过量脯氨酸却表现出对植物生长发育的抑制作用。研究采用含生长素相关标签蛋白的拟南芥转基因株系, 通过分析脯氨酸处理对生长素相关标签蛋白分布的影响, 探讨脯氨酸对拟南芥根的生长发育产生抑制的可能原因。结果表明: 脯氨酸处理影响生长素相关信号途径基因的表达; 脯氨酸没有影响拟南芥根部生长素含量, 而是影响生长素极性运输载体蛋白的表达; 而脯氨酸含量减少的*PDH*过表达株系中生长素运输载体基因表达增多。研究表明, 脯氨酸可能通过抑制生长素运输载体的表达, 影响生长素的正常流动, 从而打破生长素浓度梯度的维持, 最终抑制根的生长。研究为探讨脯氨酸在植物生长发育和逆境恢复中的调节作用提供了新的依据。

关键词: 脯氨酸; 根生长; 抑制; 生长素运输; 静止中心

环境胁迫条件下, 植物体内会大量积累脯氨酸对自身起到保护作用(Zhu等1998)。自发现脯氨酸积累以来, 对脯氨酸代谢的研究大多集中在环境胁迫下的调控和功能(Kishor等2005)。然而也有证据表明, 脯氨酸对植物的正常生长发育同样具有重要作用, 如可以作为能源为生长发育和运动提供能量(Dila和Maloy 1986; Wang和Brandriss 1986)。并且不存在胁迫时, 脯氨酸会表现出对植物生长发育的抑制(Dar等2016; Mattioli等2009), 外源施加20 mmol·L⁻¹脯氨酸就会对拟南芥幼苗的子叶伸展、真叶生长和根的伸长产生抑制作用(Deuschle等2004)。过表达脯氨酸合成途径的关键酶吡咯琳-5-羧酸合成酶(Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase, P5CS)会导致拟南芥体内脯氨酸的积累, 并且进一步抑制拟南芥的生长, 使得发育过程发生异常(Mattioli等2008)。脯氨酸的这种抑制作用被认为和活性氧产生相关, 有研究认为, 脯氨酸会导致活性氧爆发并诱导水杨酸信号途径从而抑制植物的正常生长发育(Chen等2011)。

脯氨酸对植物根系的抑制作用表现为根长明显变短(Chen等2011), 根生长发育过程中, 生长素起重要作用(Choe和Lee 2017)。*DR5*是基于转录合成的报告子, 由多个生长素响应因子(auxin response factor, ARF)结合位点(TGTCTC)串联重复组成, 通常用来检测植物组织中的生长素活性, *DR5*的分布能够指示植物体内生长素的分布和浓度(Ulmasov等1997)。生长素反应蛋白基因*IAA2*的表达也用来指示植物体内生长素的分布情况, 只是*IAA2*和*DR5*在不同的细胞类型中表达(Swarup等2005)。拟南芥有丝分裂周期蛋白*CycB1;1*可以用来标记正在

经历有丝分裂的细胞, *CycB1;1::GUS*植株可以用来研究植物根部分生区细胞的分布(Colón-Carmona等1999)。

在根分生组织中, 不活跃的静止中心(quiescent center, QC)和其周围有丝分裂活跃的干细胞形成干细胞微环境, 成为根部除表皮和根冠外组织的细胞来源(Schiefelbein和Berfey 1991)。生长素的分布和干细胞环境的维持密切相关, 正常的拟南芥植株中, QC的生长素浓度最大(Petersson等2009)。生长素通过维管组织向根部运输到达根尖, 然后在根的侧部又反过来向上运输, 生长素流动循环的存在使得植物根部产生了一个生长素的浓度梯度, QC处生长素浓度最高, 距离QC越远, 生长素浓度越低(Woodward和Bartel 2005)。生长素浓度梯度决定了根部组织的发育命运(Ding和Friml 2010), 生长素浓度梯度由生长素的极性运输维持, 而生长素的极性运输由生长素运输载体PINs来实现(Petersson等2009)。负责生长素运输的有生长素极性运输载体PINs蛋白以及AUX1生长素内向性运输载体(Kleine-Vehn等2006)。正常情况下, 拟南芥根中PIN1位于维管细胞面向根的基部侧(Galweiler等1998), 使得生长素向下运输。PIN2位于根冠和表皮细胞面向茎叶的顶部, 使得生长素向上运输(Rahman等2010)。PIN3分布于根细胞的侧部, 使得生长素水平运输(Friml等2002)。

脯氨酸在渗透胁迫中起保护作用, 然而正常

收稿 2017-05-22 修定 2017-07-12

资助 宁夏自然科学基金(NZ16215)。

* 通讯作者(E-mail: wangcuipingcas@163.com)。

生长发育情况下, 过量的脯氨酸会对植物地上部分和根的生长产生抑制作用。为了研究过量脯氨酸对植物根生长抑制作用的原因, 并且考虑到生长素对根的发育起到关键作用, 我们采用含生长素相关标签蛋白的拟南芥转基因株系, 通过脯氨酸处理情况下生长素相关标签蛋白表达的变化, 来分析脯氨酸对生长素相关标签蛋白分布的影响, 探讨脯氨酸对拟南芥根生长发育产生抑制的可能原因。

材料与方法

1 实验材料

实验所用野生型拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)为Columbia (Col-0)生态型。所有含生长素标签蛋白的拟南芥转基因株系基础材料为Columbia (Col-0)生态型(Zhang等2015), *PDH*过量表达株系由Verbruggen实验室所惠赠(Mani等2002)。

2 实验方法

2.1 拟南芥培养与种植

取适量的干燥拟南芥种子于2 mL离心管中, 70%乙醇浸泡30 s, 10%次氯酸钠溶液处理15 min, 无菌水洗6~8次, 播种于1/2MS培养基或者含有所需浓度脯氨酸的1/2MS培养基上, 4°C春化2~3 d后置于光照培养箱中培养, 培养条件为16 h/8 h光周期。

2.2 植物材料的脯氨酸处理

将拟南芥种子播种于不含脯氨酸的1/2MS培养基上, 生长2周后, 将幼苗转移到含30 mmol·L⁻¹

脯氨酸的液体1/2MS培养基中, 处理相应时间, 收样。

2.3 Real-time PCR检测基因表达

RNA提取采用SDS-LiCl沉淀法, 按照宝生物工程(大连)有限公司的M-MLV反转录试剂盒使用说明合成cDNA。采用不含RNase的DNase I消化残存DNA; 以Oligo (dT)₁₈为引物, 进行cDNA第一条链的合成。反转录产物放于-20°C保存备用。

采用real-time PCR检测基因的表达量, 引物见表1, 反应体系为: 模板cDNA 2 μL (10 ng·μL⁻¹), 正反向引物各1 μL (10 μmol·L⁻¹), SYBR[®] Green Real-time PCR Master Mix (QPK-201, TOYOBO, Osaka, Japan) 10 μL, ddH₂O 6 μL。PCR反应程序为: 95°C 2 min; 95°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 30 s, 40个循环, 每个样品做3个重复, 相对表达量的计算采用2^{-ΔΔC_t}方法(Schmittgen和Livak 2008), 实验仪器采用安捷伦Mx3000P荧光定量PCR仪(Stratagene, LaJolla, CA, USA)。结果用平均值±标准误显示, 统计分析采用SPSS 22.0进行单因素方差分析(ANOVA), 不同的字母代表在P≤0.05水平上差异显著。

2.4 GUS染色

将整株幼苗浸入GUS染色液(1 mmol·L⁻¹ X-Gluc溶于100 mmol·L⁻¹硫酸钠缓冲液, pH 7.2, 0.5 mmol·L⁻¹ ferricyanide, 0.5 mmol·L⁻¹ ferrocyanide, 0.1% Triton X-100), 抽真空, 37°C黑暗处理24 h, 然后将幼苗转入HCG (H₂O chloroacetaldehyde glycerol) 溶液(氯乙醛:甘油:水=8:3:1), 进行显微镜(BX53, OLYMPUS, Tokyo, Japan)观察, 拍照。

表1 检测相关基因表达的real-time PCR引物
Table 1 Real-time PCR primers for gene expression

基因	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>IAA2</i>	CGGACAAAACCCGAAGTT	TGATTCGGATCGGAGTTTGAC
<i>AUX1</i>	TCTCGACCACTCCAACGC	TCCCAATCACTTCTCCAC
<i>PIN1</i>	TACTCCGAGACCTTCCAACACTACG	TCCACCGCCACCACTCC
<i>PIN4</i>	ATGCTGGTCTTGGAATGGCTATG	CTGAACGATGGCTATACGGAGAAG
<i>SAURL</i>	TTGTTTCTTACACAAAACCTGGCTTTC	TCAGCATAAATTCTAGGATCCAATGA
<i>TIR1</i>	CATTGTTGAGTCTTGGTCCATGTT	GTGGCTGGTCTCGATTTGA
<i>ABP1</i>	GCTCCAGGTTCCAGAGACACC	TAATAGCGGCCGAGATATG
<i>P5CS1</i>	TGTGTAAAGACCTTCAACATCGCTC	AAGAGCCCCATATCAGGATTCTCT
<i>P5CS2</i>	AACGGCACCAGATGACACCAAAAATG	TTAAGCGTATCGTCTCAAGGTTGG
<i>P5CDH</i>	GCTTCTTTGACTCTCTCCAGATTGA	GCGTGTATGATTTGACGATCCTAT
<i>P5CR</i>	GAGAGTATAGCTAGAGGTGTGGTTG	AGAACTTCTTCGCTAGTGAGAAGA
<i>Tubulin</i>	AGGCAAAATGAGCACGAAAAGA	TCAGACCTGTTGGTGAATGTCAC

2.5 激光共聚焦显微镜观察生长素标签蛋白的表达和分布

脯氨酸处理和对照拟南芥幼苗根采用激光共聚焦显微镜(FV1000 MPE, OLYMPUS, Tokyo, Japan)进行观察, 为更清楚观察细胞轮廓, 采用PI (propidium iodide)工作液($20\sim 50\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)染色5 min, 用双蒸水冲洗1次后观察, 拍照, 每种处理观察植株数大于10个。

实验结果

1 脯氨酸处理影响生长素相关基因的表达

为研究脯氨酸是否通过生长素信号途径对根生长产生抑制, 我们首先研究了脯氨酸是否影响生长素相关基因的表达, 检测了 $30\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 脯氨酸处理不同时间后, 野生型拟南芥中生长素相关基因的表达。如图1所示, *IAA2*和*SAUR*作为生长素早期响应基因, 其表达受到脯氨酸的抑制; *PIN4*作为生长素运输载体基因, 表达受到脯氨酸诱导; 介导蛋白泛素化降解的生长素受体基因*TIR1*的表达亦受到脯氨酸诱导; 而位于质膜的生长素结合蛋白*ABPI*的表达没有受到脯氨酸的影响。

2 脯氨酸处理没有导致拟南芥根部生长素含量的变化

为检测脯氨酸处理后突变体中生长素的积累和分布状况是否发生异常, 采用 $30\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 脯氨酸处理*DR5:GUS*、*DR5rev:GFP*、*IAA2p:GUS*和*CycB1;1:GUS*转基因植株, 通过观察植株体内GFP和GUS量的变化, 来分析脯氨酸处理后植株体内生长素分布及分生区细胞数目的变化。结果表明, 脯氨酸处理后, 无论是GFP还是GUS指示的*DR5*都没有显著区别(图2-A和B), 分生区细胞的数目也没有发生显著变化(图2-D)。这些结果意味着脯氨酸处理没有造成拟南芥根部生长素分布和含量的变化。而GUS指示的*IAA2*的分布在脯氨酸处理之后减少(图2-C), 表明*IAA2*所指示细胞类型的生长素有所减少, 这和图1中脯氨酸处理之后*IAA2*基因表达减少结果一致。

3 脯氨酸处理导致根生长点的作用减弱

*J2341:GFP*是GFP在根柱干细胞中特异性表达的株系, 在正常生长条件下该株系GFP在根柱干细胞中(columella initials)表达(Haseloff等1999)。我们检测了 $30\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 脯氨酸处理3 d后, 野生型

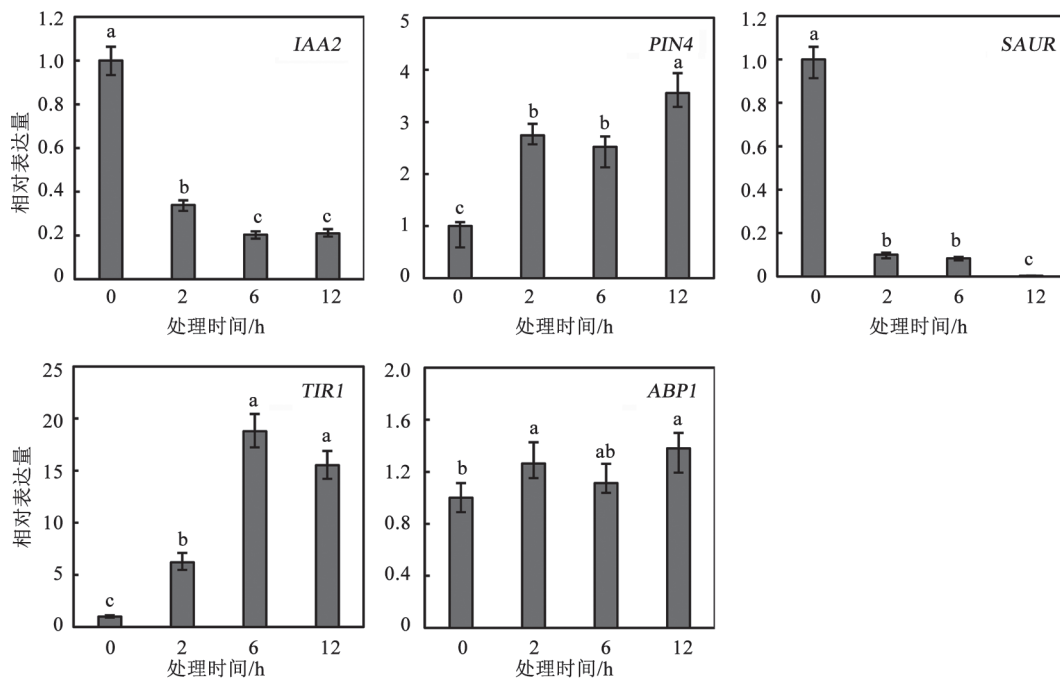


图1 脯氨酸处理后生长素相关基因的表达

Fig.1 The expression of genes relative to auxin after proline treatment
对单个基因, 各柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$), 图5同此。

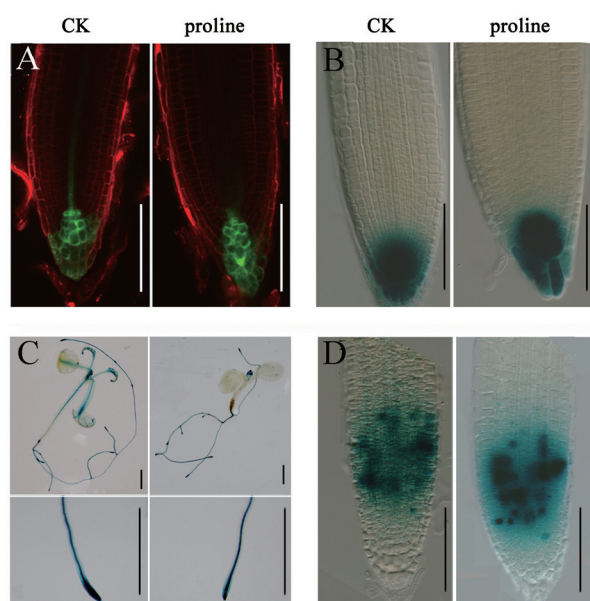


图2 脯氨酸处理后生长素的积累

Fig.2 The accumulation of auxin after treatment by proline

A: *DR5rev:GFP*, 标尺=100 μm ; B: *DR5:GUS*, 标尺=100 μm ; C: *IAA2p:GUS*, 标尺=2 mm; D: *CycB;1:GUS*, 标尺=100 μm . CK: 对照; proline: 30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 脯氨酸处理3 d, 图3、4同此。

拟南芥中在QC处特定表达的WUS-RELATED HOMEODOMAIN BOX 5 (*WOX5*)和*QC25*的分布, 并且检测了*J2341:GFP*株系中GFP的分布。结果发现, 脯氨酸处理后*WOX5*和*QC25*的分布位置没有发生变化, 但是表达强度弱了很多(图3-A和B), 而脯氨酸导致*J2341:GFP*株系中GFP的表达位置发生了变化(图3-C)。这个结果表明, 脯氨酸处理影响了QC的维持, 并使根柱干细胞的位置分布发生了改变, 即脯氨酸影响了根部干细胞的维持。

4 脯氨酸处理导致生长素运输发生变化

图3表明脯氨酸影响了QC的维持, 而生长素的正常流动对于QC的维持至关重要, 推测脯氨酸可能影响了生长素的运输, 从而打破了生长素的正常流动造成QC的功能减弱。为验证这一推测, 利用含生长运输载体标签的拟南芥指示株系, 研究了脯氨酸对生长素运输载体分布的影响。

研究发现, 脯氨酸处理之后, 植株中生长素内向性运输载体AUX1和生长素极性运输载体PIN1、PIN2和PIN3蛋白的表达均减弱(图4)。

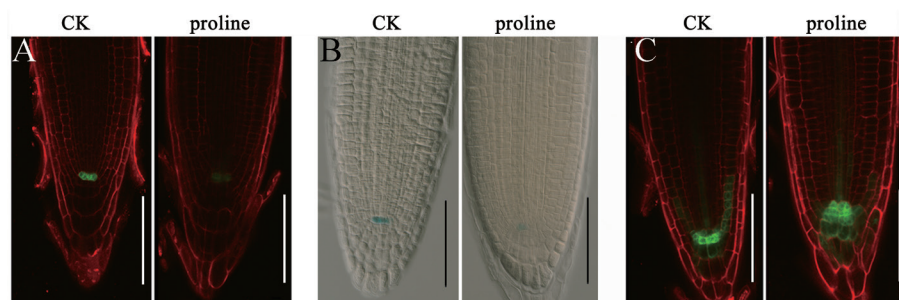


图3 脯氨酸处理导致干细胞组织中心发生异常

Fig.3 The stem cell niche was ectopic in response to proline treatment

A: *WOX5pro:GFP*; B: *QC25:GUS*; C: *J2341:GFP*. 标尺=100 μm 。

综合图2、3和4的结果, 脯氨酸处理并不影响植物根部生长素的含量, 但是可能影响了生长素的正常流动, 从而使得QC的功能减弱。

5 脯氨酸降解关键基因过量表达导致生长素运输发生变化

脯氨酸脱氢酶(proline dehydrogenase, PDH)是脯氨酸降解途径关键酶, 植株体内过量表达*PDH1*会造成植株体内脯氨酸含量的降低, 我们利用*PDH1*过量表达株系进一步研究脯氨酸减少对生长素运输的影响。结果表明, *PDH1*过量表达植株中生长素运输载体蛋白基因*AUX1*和*PINI*的表达均增多,

这很好的验证了图5的结果, 也进一步证明了脯氨酸可能通过影响生长素运输载体, 而影响了生长素的正常流动, 从而抑制了根部QC的维持和根的进一步生长发育。

讨 论

众所周知, 胁迫能够导致植物体内脯氨酸的积累, 从而对植物自身起到保护作用。而有研究认为, 胁迫在导致植物体内脯氨酸积累的同时也会使体内生长素含量提高, 这就在脯氨酸和生长素之间建立了某种联系(Dobra等2010)。已经有证

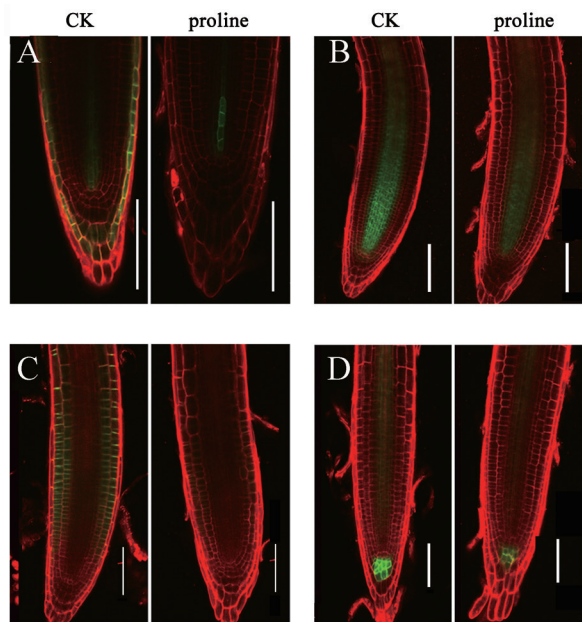


图4 脯氨酸处理导致生长素运输载体表达模式发生变化
Fig.4 The expression pattern of auxin transporter changed in response to proline treatment

A: *AUX1pro:AUX1:GFP*; B: *PIN1pro:PIN1:GFP*; C: *PIN2pro:PIN2:GFP*; D: *PIN3pro:PIN3:GFP*。标尺=100 μm 。

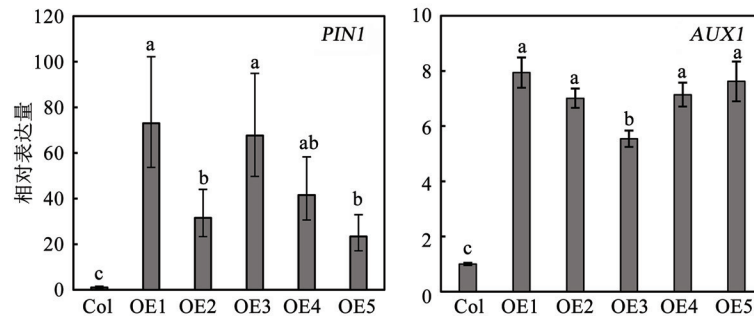


图5 *PDHI*过表达植株中生长素运输载体的表达发生变化

Fig.5 The expression of auxin transporter genes (*AUX1*, *PIN1*) changed in *PDHI* over-expression lines

Col: Columbia生态型野生型; OE1~5: *PDHI*过量表达不同株系。

减弱,生长素运输载体AUX1、PIN1、PIN2、PIN3蛋白的表达均减弱,可能是脯氨酸影响了生长素的正常流动,从而导致QC功能的减弱,这证实了我们的推测。而脯氨酸含量减少的*PDHI*过表达株系中,生长素运输载体基因*AUX1*和*PIN1*的表达均升高,这似乎也进一步验证了脯氨酸对生长素运输载体的影响。本研究为探讨脯氨酸对植物生长发育的影响和胁迫情况下植物对自身生长的保护性抑制机制提供了新的证据并奠定了一定的基础。

据表明脯氨酸影响根的生长(Chen等2011),本研究继续探索了脯氨酸对根生长的抑制是否和生长素的信号转导相关。我们利用一些生长素相关蛋白标记的拟南芥转基因株系,检测了脯氨酸对生长素相关信号的影响。结果表明在30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 脯氨酸处理下,*DR5rev:GFP*和*DR5:GUS*报告株系所指示的根尖生长素的分布没有变化,而*IAA2p:GUS*明显要低于处理前的水平,real-time PCR结果也表明了生长素早期响应基因*IAA2*的表达确实受脯氨酸的抑制。这说明脯氨酸能够影响生长素的早期响应,并且野生型*TIR1*基因亦受脯氨酸的诱导,可能脯氨酸影响的是*TIR1*依赖性的生长素信号。IAA是生长素信号转导中的重要元件,可能作为转录因子参与生长素诱导基因表达的第二时期,IAA蛋白可能通过感受生长素浓度梯度的高低,并将这一信息转换成基因表达水平高低的信号,从而引起形态学和发育模式的变化(Liscum和Reed 2002)。据此推测,可能是由于脯氨酸影响了生长素浓度梯度的维持,从而影响了生长素下游信号传导。而本研究中,脯氨酸处理后QC25和WOX5的表达明显

参考文献

- Chen J, Zhang Y, Wang C, Lu W, Jin JB, Hua X (2011). Proline induces calcium-mediated oxidative burst and salicylic acid signaling. *Amino Acids*, 40 (5): 1473–1484
- Choe G, Lee J (2017). Push-pull strategy in the regulation of postembryonic root development. *Curr Opin Plant Biol*, 35: 158–164
- Colón-Carmona A, You R, Haimovitch-Gal T, Doerner P (1999). Spatio-temporal analysis of mitotic activity with a labile cyclin-GUS fusion protein. *Plant J*, 20 (4): 503–508
- Dar MI, Naikoo MI, Rehman F, Naushin F, Khan FA (2016). Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant devel-

- opment. In: Iqbal N, Nazar R, Khan NA (eds). *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*. New Delhi: Springer India, 155–166
- Deuschle K, Funck D, Forlani G, Stransky H, Biehl A, Leister D, van der Graaff E, Kunze R, Frommer WB (2004). The role of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase in proline degradation. *Plant Cell*, 16 (12): 3413–3425
- Dila DK, Maloy SR (1986). Proline transport in *Salmonella typhimurium*: *putP* permease mutants with altered substrate specificity. *J Bacteriol*, 168 (2): 590–594
- Ding ZJ, Friml J (2010). Auxin regulates distal stem cell differentiation in *Arabidopsis* roots. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107 (26): 12046–12051
- Dobra J, Motyka V, Dobrev P, Malbeck J, Prasil IT, Haisel D, Gaudinova A, Havlova M, Gubis J, Vankova R (2010). Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content. *J Plant Physiol*, 167 (16): 1360–1370
- Friml J, Wisniewska J, Benkova E, Mendgen K, Palme K (2002). Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature*, 415 (6873): 806–809
- Galweiler L, Guan CH, Muller A, Wisman E, Mendgen K, Yephremov A, Palme K (1998). Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue. *Science*, 282 (5397): 2226–2230
- Haseloff J, Dormand EL, Brand AH (1999). Live imaging with green fluorescent protein. *Methods Mol Biol*, 122: 241–259
- Kishor PBK, Sangam S, Amrutha RN, Laxmi PS, Naidu KR, Rao KRSS, Rao S, Reddy KJ, Theriappan P, Sreenivasulu N (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr Sci India*, 88 (3): 424–438
- Kleine-Vehn J, Dhonukshe P, Swarup R, Bennett M, Friml J (2006). Subcellular trafficking of the *Arabidopsis* auxin influx carrier AUX1 uses a novel pathway distinct from PIN1. *Plant Cell*, 18 (11): 3171–3181
- Liscum E, Reed JW (2002). Genetics of Aux/IAA and ARF actin in plant growth and development. *Plant Mol Biol*, 49 (3-4): 387–400
- Mani S, Cotte BVd, Montagu MV, Verbruggen N (2002). Altered levels of proline dehydrogenase cause hypersensitivity to proline and its analogs in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 128: 73–83
- Mattioli R, Costantino P, Trovato M (2009). Proline accumulation in plants: not only stress. *Plant Signal Behav*, 4 (11): 1016–1018
- Mattioli R, Marchese D, D'Angeli S, Altamura MM, Costantino P, Trovato M (2008). Modulation of intracellular proline levels affects flowering time and inflorescence architecture in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 66 (3): 277–288
- Petersson SV, Johansson AI, Kowalczyk M, Makoveychuk A, Wang JY, Moritz T, Grebe M, Benfey PN, Sandberg G, Ljung K (2009). An auxin gradient and maximum in the *Arabidopsis* root apex shown by high-resolution cell-specific analysis of IAA distribution and synthesis. *Plant Cell*, 21 (6): 1659–1668
- Rahman A, Takahashi M, Shibasaki K, Wu SA, Inaba T, Tsurumi S, Baskin TI (2010). Gravitropism of *Arabidopsis thaliana* roots requires the polarization of PIN2 toward the root tip in meristematic cortical cells. *Plant Cell*, 22 (6): 1762–1776
- Schiefelbein JW, Benfey PN (1991). The development of plant roots: New approaches to underground problems. *Plant Cell*, 3 (11): 1147–1154
- Schmittgen TD, Livak KJ (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative C_T method. *Nat Protoc*, 3 (6): 1101–1108
- Swarup R, Kramer EM, Perry P, Knox K, Leyser HMO, Haseloff J, Beemster GTS, Bhalerao R, Bennett MJ (2005). Root gravitropism requires lateral root cap and epidermal cells for transport and response to a mobile auxin signal. *Nat Cell Biol*, 7 (11): 1057–1065
- Ulmasov T, Murfett J, Hagen G, Guilfoyle TJ (1997). Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell*, 9 (11): 1963–1971
- Wang SS, Brandriss MC (1986). Proline Utilization in *Saccharomyces cerevisiae*: Analysis of the Cloned *PUTI* Gene. *Mol Cell Biol*, 6 (7): 2638–2645
- Woodward AW, Bartel B (2005). Auxin: Regulation, action, and interaction. *Ann Bot-LONDON*, 95 (5): 707–735
- Zhang M, Wang CP, Lin QF, Liu AH, Wang T, Feng XJ, Liu J, Han HL, Ma Y, Bonea D, et al (2015). A tetratricopeptide repeat domain-containing protein SSR1 located in mitochondria is involved in root development and auxin polar transport in *Arabidopsis*. *Plant J*, 83: 582–589
- Zhu BC, Su J, Chan MC, Verma DPS, Fan YL, Wu R (1998). Overexpression of a Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water- and salt-stress in transgenic rice. *Plant Sci*, 139 (1): 41–48

Proline inhibits plant root growth through signal of auxin pathway in *Arabidopsis thaliana*

WANG Cui-Ping*, CHEN Jian-Wei, QIAO Gai-Xia

State Key Laboratory of the Seedling Bioengineering, Ningxia Forestry Institute, Yinchuan 750004, China

Abstract: Although free proline accumulation is proposed to play protective roles in many plants in response to environmental stresses, by either exogenous application or endogenous over-production, in the absence of stresses, is found to be inhibitory to plant growth. In order to explore the inner mechanism of the inhibiting effect for plant root growth, we detected the expression of auxin marker in response to proline treatment transgenic *Arabidopsis* auxin marker lines. The results showed that proline affected the expression of auxin genes in *Arabidopsis*. The content of auxin was not affected by proline, but the expression of auxin carriers was reduced. And in the overexpression lines of *PDH*, in which proline content was reduced, the expression of auxin carrier genes was induced. These results suggested that proline inhibited the auxin flux by inhibiting the expression of auxin carrier genes, which broke the auxin concentration gradient, resulted in inhibiting of root growth. This research will contribute to understand the role of proline in plant growth and osmotic stress.

Key words: proline; root growth; inhibit; auxin transport; quiescent center

Received 2017-05-22 Accepted 2017-07-12

This work was supported by Ningxia Natural and Science Foundation (Grant No. NZ16215).

*Corresponding author (E-mail: wangcuiqingcas@163.com).