

脯氨酸通过活性氧信号抑制植物生长

王翠平^{1*}, 严莉^{1,2}, 乔改霞¹, 李健¹

¹宁夏林业研究院种苗生物工程国家重点实验室, 银川750004; ²宁夏大学生命科学学院, 银川750021

摘要: 本研究采用具有不同脯氨酸浓度积累的3个拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)株系——野生型(WT)、*pdh*突变体和脯氨酸脱氢酶基因(*PDH*)过量表达株系(PDH-S), 通过检测其脯氨酸敏感性、H₂O₂含量和抗氧化酶活性的差异及WT中胁迫响应基因的表达情况, 探讨脯氨酸抑制植物生长的原因。结果显示, 脯氨酸敏感性以*pdh*突变体最高, WT居中, PDH-S最不敏感。脯氨酸处理后, 植株体内的H₂O₂含量升高, PDH-S和WT相当且高于*pdh*突变体; 抗氧化酶活性以PDH-S最高, *pdh*突变体最低。另外, 脯氨酸处理能够诱导WT中胁迫响应基因的表达。研究表明, 抑制植物生长的是脯氨酸自身而不是其代谢产物, 脯氨酸可能通过活性氧信号途径对植物生长产生抑制作用。研究结果将有助于了解脯氨酸在植物生长发育和逆境恢复中的调节作用, 为抗逆植物育种提供理论依据。

关键词: 脯氨酸; 活性氧; 生长发育; 抑制作用

环境胁迫条件下, 高等植物可以在短时间内迅速大量积累脯氨酸(proline)等渗透调节物质, 以此来增强对渗透胁迫的抵抗能力, 从而对自身起到保护作用(Dar等2016; Kishor等1995; 李鸿雁和李大红2014; Schat等1997; Tavakoli等2016; Yang等2009)。研究表明, 胁迫条件下脯氨酸可能起到兼容性渗透调节剂、蛋白质和亚细胞结构稳定剂、活性氧(reactive oxygen species, ROS)清除剂和氧化还原平衡剂的作用(Chaves等2009; 邓凤飞等2015; Wu等2017)。虽然逆境中脯氨酸对植物起到保护作用, 但是在正常生长条件下脯氨酸却对植物有毒性, 如外源施加脯氨酸会抑制拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)幼苗的子叶伸展、真叶生长和根的伸长(Deuschle等2004; Mani等2002)。Mattioli等(2008)发现, 拟南芥中过量表达脯氨酸合成途径的关键酶吡咯琳-5-羧酸合成酶(pyrroline-5-carboxylate synthetase, P5CS)会导致体内脯氨酸的积累, 而这种积累会抑制拟南芥的生长, 使发育过程发生异常。

脯氨酸脱氢酶(proline dehydrogenase, PDH)是脯氨酸降解途径的限速酶, 将脯氨酸降解为吡咯琳-5-羧酸(pyrroline-5-carboxylate, P5C)。脯氨酸的抑制作用可能是因为脯氨酸或其降解产物P5C诱导产生ROS进而导致细胞死亡引起的。Mani等(2002)研究发现, 反义表达抑制PDH的作用能够提高植株对脯氨酸的敏感性, 因而认为是脯氨酸自身的作用导致了其对植物生长发育的抑制效应; Nanjo等(2003)进一步利用对拟南芥*pdh*突变体的研究支持了这一说法。吡咯琳-5-羧酸脱氢酶(pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase, P5CDH)是脯氨

酸降解途径的另一个关键酶, 降解P5C为谷氨酰半醛(glutamic γ -semialdehyde, GSA)。*p5cdh*突变体由于*P5CDH*基因的突变导致体内P5C的含量提高, Mattioli等(2008)通过对*p5cdh*突变体的研究认为, 是脯氨酸降解产生的GSA/P5C对植物产生抑制作用。而医学和动物中的研究还发现, 脯氨酸及其代谢产物在体内诱导产生ROS, 从而调节细胞程序化死亡或作为信号分子调节一部分神经传递(Deuschle等2004)。那么, 脯氨酸抑制植物生长是否通过动物体内类似的机制, 脯氨酸的作用是否会诱导胁迫响应基因的变化, 本文就这些问题进行了研究。

材料与方法

1 实验材料

本文采用的3个不同脯氨酸含量的拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.] 株系: 野生型(WT)为Columbia (Col-0)生态型; *PDH*过量表达株系(PDH-S)由Verbruggen实验室惠赠(Mani等2002); *pdh*突变体购自拟南芥生物资源中心(*Arabidopsis* Biological Resource Center, ABRC), 参考Nanjo等(2003)的方法进行纯合体筛选。

2 实验方法

2.1 拟南芥培养

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%次氯酸钠处理15 min, 无菌水洗

收稿 2017-06-19 修定 2017-09-15

资助 宁夏自然科学基金(NZ16215)。

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

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低温处理2~3 d后置于培养箱中培养, 光周期为16 h光/8 h暗, 温度为20°C。

2.2 脯氨酸敏感性鉴定及脯氨酸处理

将种子播种于正常1/2MS培养基上, 生长1周后, 将幼苗移至不含和含20 mmol·L⁻¹脯氨酸的1/2MS培养基上, 倒立培养1周后观察表型, 判断脯氨酸敏感性。

脯氨酸处理时, 将1/2MS培养基上生长2周的幼苗转移到含0、15和45 mmol·L⁻¹脯氨酸的1/2MS液体培养基中, 处理3 d, 进行脯氨酸含量测定; 幼苗转移到含45 mmol·L⁻¹脯氨酸的1/2MS液体培养基中, 处理0和3 d, 进行DAB染色和过氧化氢(H₂O₂)含量测定; 幼苗转移到含45 mmol·L⁻¹脯氨酸的1/2MS液体培养基中, 处理0、24和48 h, 进行抗氧化酶活性测定; 幼苗转移到含45 mmol·L⁻¹脯氨酸的1/2MS液体培养基中, 处理0、2、6和12 h, 取样进行基因差异表达检测。

2.3 叶绿素及脯氨酸含量测定

叶绿素含量测定采用比色法(孙俊宝和王建新2010)。按照Bates等(1973)的方法进行脯氨酸含量测定。

2.4 H₂O₂含量测定

H₂O₂定性检测采用二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)染色法(Thordal-Christensen等1997); H₂O₂含量测定应用Amplex Red过氧化氢/过氧化物酶分析试剂盒(Molecular Probes A22188, Eugene, Oregon, USA), 按说明书进行操作。

2.5 抗氧化酶活性测定

新鲜植物材料置于研钵中, 加入提取缓冲液(pH 7.0的100 mmol·L⁻¹硫酸钾缓冲液, 含0.1 mmol·L⁻¹ EDTA和1% PVPP), 4°C下研磨, 组织匀浆于4°C下15 000×g离心20 min, 取上清液待用。

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性采用氮蓝四唑(nitro-blue tetrazolium, NBT)法测定(Giannopolitis和Ries 1977); 过氧化氢酶(catalase, CAT)活性用高锰酸钾滴定法测定(Lu等2007); 用愈创木酚法测定过氧化物酶(peroxidase, POD)活性(廖金花2015)。以U·min⁻¹·g⁻¹(FW)表示酶活力单位。

2.6 Real-time PCR检测基因表达

RNA提取采用SDS-LiCl沉淀法, 采用不含RNase的DNase I消化RNA中残存DNA, 以Oligo (dT)₁₈为引物, 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real-time PCR分别检测脯氨酸处理不同时间后相关基因的表达量, 引物见表1, 反应体系为: 模板cDNA 2 μL (10 ng·μL⁻¹)、正反向引物分别1 μL (10 μmol·L⁻¹)、SYBR[®] Green Realtime PCR Master Mix (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。每个处理重复3次, 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 (Stratagene, La Jolla, CA, USA)。

实验结果

1 脯氨酸抑制拟南芥根伸长和子叶生长

为研究外源脯氨酸对植物生长的抑制作用, 将拟南芥种子播种于含0、15、30、45 mmol·L⁻¹ L-脯氨酸的1/2MS培养基上。如图1-A和B所示, 15 mmol·L⁻¹的脯氨酸即会导致拟南芥地上部分失绿并且根生长受到抑制, 随着脯氨酸浓度的升高, 根长逐渐变短且地上部分黄化更严重。进一步测定不同脯氨酸浓度处理下拟南芥单株鲜重和叶绿素含量, 发现两者均随着脯氨酸浓度的升高而明显降低(图1-C和D)。

表1 检测基因表达的real-time PCR引物

Table 1 Real-time PCR primers for gene expression analysis

基因	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
<i>DREB1A</i>	GGTAAGTGGGTTGTGAGG	GCGAAATTGAGACAGGCTGAT
<i>DREB2A</i>	AAAGGTAAAGGAGGACCAGA	GCCAAAGGACCATACATAGC
<i>RAB18</i>	GGGACTGAAGGCTTTGGAAC	TGATGACCTGGCAACTTCTCC
<i>RD29A</i>	ATGATGACGAGCTAGAACCCT	TAATCGGAAGACACGACAGG
<i>Tubulin</i>	AGGCAAAATGAGCAGCAAAGA	TCAGACCTGTTGGTGGAAATGTCAC

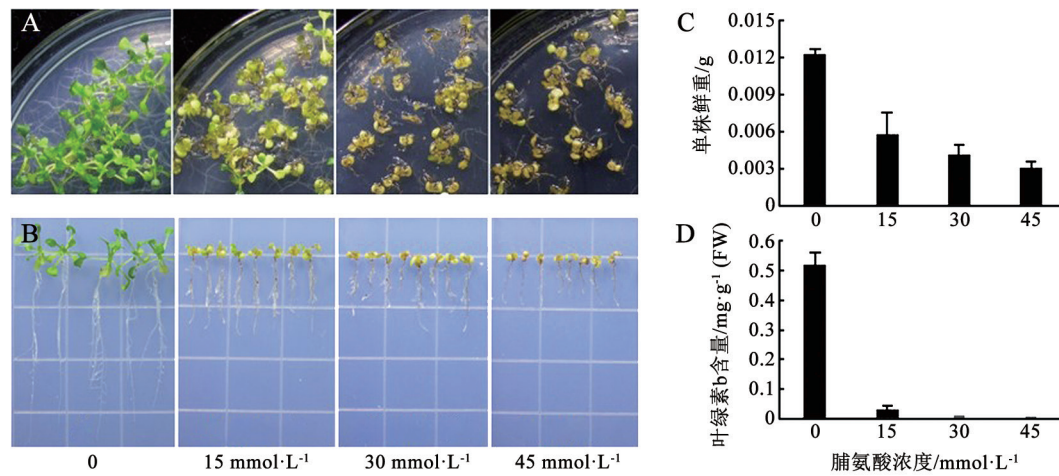


图1 脯氨酸抑制拟南芥幼苗的生长
Fig.1 Proline inhibits the growth of *Arabidopsis* seedlings

2 三个不同拟南芥株系对脯氨酸的敏感性

PDH是脯氨酸降解途径中的关键酶, *PDH*基因过量表达会导致植株体内脯氨酸含量减少, 降解产物P5C含量增多, 而*pdh*突变体由于*PDH*基因的突变会造成体内脯氨酸的积累。至于究竟是脯氨酸还是其降解产物P5C抑制了植物的生长, 前人的研究有不同的观点。本文研究了WT、PDH-S和*pdh*突变体3个拟南芥株系对脯氨酸处理的敏感性, 及外源脯氨酸处理下植株内脯氨酸的积累情况。结果发现: 幼苗移至含20 mmol·L⁻¹脯氨酸的培养基培养1周后, PDH-S株系基本能正常生长; WT生长受到明显抑制, 叶片发黄, 根伸长变短; *pdh*突变体生长受到严重抑制, 叶片完全黄化且根几乎没有伸长(图2-A)。可见, *pdh*突变体对脯氨酸最为敏感, WT居中, PDH-S最不敏感。用15和45 mmol·L⁻¹脯氨酸处理3 d后, 不同株系体内脯氨酸含量表现为*pdh*突变体最高、WT居中、PDH-S最少(图2-B)。以上结果表明: 体内脯氨酸含量越高, 植株对脯氨酸越敏感, 意味着脯氨酸抑制植物生长可能是由脯氨酸自身的作用造成的, 并非脯氨酸降解产物P5C所致。

3 脯氨酸处理后植物体内H₂O₂含量升高

动物和医学中的研究认为脯氨酸通过ROS信号调节细胞程序化死亡, 为探讨脯氨酸是否同样通过ROS途径抑制植物生长, 将3个株系用45 mmol·L⁻¹脯氨酸处理3 d后, 分别进行DAB染色并定量检测植株体内H₂O₂含量。结果发现: 脯氨酸

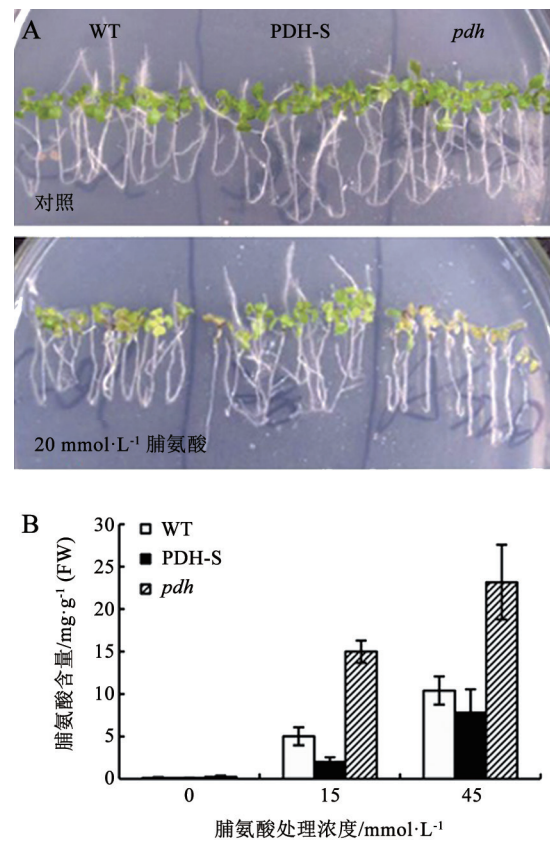


图2 三个拟南芥株系对脯氨酸的敏感性(A)及脯氨酸处理后植株内脯氨酸含量的检测(B)

Fig.2 Sensitivity (A) and proline content (B) of three *Arabidopsis* lines in response to proline

处理后, 3个株系体内H₂O₂含量均升高, WT和PDH-S植株中脯氨酸的含量明显高于*pdh*突变体(图3)。

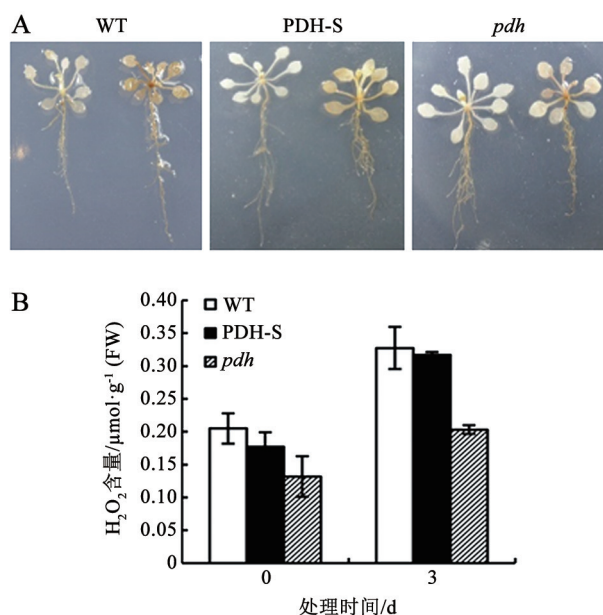


图3 脯氨酸处理后3个拟南芥株系的DAB染色(A)和H₂O₂含量(B)

Fig.3 DAB staining and H₂O₂ content in three *Arabidopsis* lines after proline treatment

脯氨酸处理浓度为45 mmol·L⁻¹。A中左为对照, 右为脯氨酸处理3 d。

说明脯氨酸处理确实导致植物体内ROS的产生。而*pdh*突变体中, *PDH*的突变使内源脯氨酸增多, 对植物ROS的产生具有一定的抑制作用, 这可能意味着脯氨酸对植物的抑制作用除ROS信号以外还有其他途径的参与。

4 脯氨酸处理后植物体内抗氧化酶活性升高

由图3可知, 脯氨酸诱导了植物体内H₂O₂的产生, 而H₂O₂将诱导植物产生一系列防御机制包括

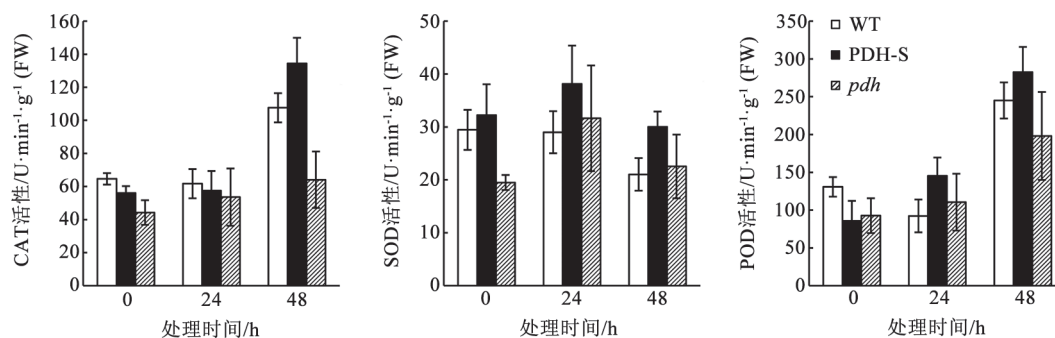


图4 脯氨酸处理下3个拟南芥株系的抗氧化酶活性

Fig.4 Activities of antioxidant enzymes in three *Arabidopsis* lines after proline treatment

脯氨酸处理浓度为45 mmol·L⁻¹。

提高抗氧化酶活性以保护植物细胞免受或减轻氧化胁迫。45 mmol·L⁻¹脯氨酸处理48 h后植株体内CAT和POD活性升高, 而SOD活性没有升高; 3个不同的株系中, 抗氧化酶活性PDH-S最高, WT居中, *pdh*突变体最低(图4)。由于3个株系对脯氨酸的敏感性由高到低为PDH-S、WT、*pdh*突变体(图2-A), 说明抗氧化酶活性的升高会与脯氨酸敏感性降低具有对应关系, 进一步证实脯氨酸可能通过产生ROS对植物产生毒害作用。

5 胁迫响应基因表达受脯氨酸诱导

植物自身具有一套感受和传导胁迫信号的系统, 并形成一系列生理和发育机制来响应环境胁迫, 从而最大程度地减轻胁迫带来的伤害。胁迫诱导基因包括脱落酸(abscisic acid, ABA)依赖型和ABA不依赖型, ABA依赖型转录因子包括RAB18和RD29A等, ABA不依赖型转录因子包括DREB等(Yamaguchi-Shinozaki和Shinozaki 1994)。为探讨脯氨酸是否能和其他胁迫一样诱导胁迫响应基因的表达及基因所属的信号途径, 检测了4个转录因子基因在脯氨酸处理不同时间后的表达情况。结果表明, 所检测的ABA依赖途径和ABA不依赖途径的转录因子均受脯氨酸处理的诱导(图5), 脯氨酸处理诱导了植物的胁迫响应机制。

讨论

虽然逆境中脯氨酸的积累对植物起到保护作用, 但是在正常生长条件下, 脯氨酸却对植物具有毒性。Nanjo等(2003)发现, 10 mg级的脯氨酸就会

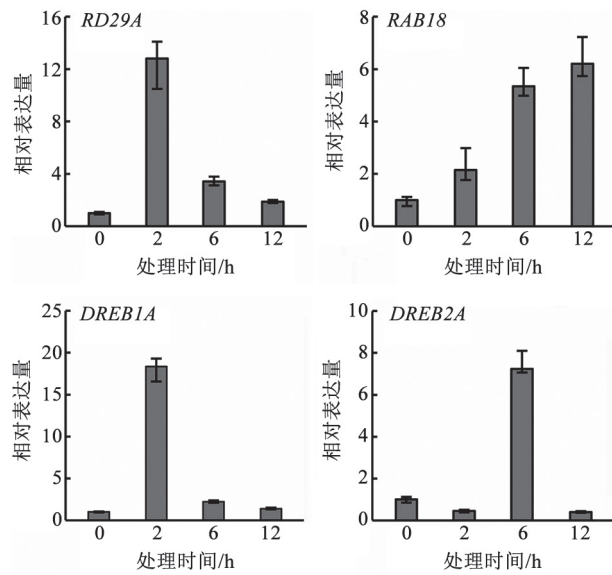


图5 脯氨酸处理不同时间后胁迫响应基因的表达分析
Fig.5 Analysis of the expression of stress-responsive genes in response to proline in different times
脯氨酸处理浓度为45 mmol·L⁻¹。

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。这种抑制作用可能是因为脯氨酸或其降解产物(P5C)诱导ROS产生,进而导致细胞死亡引起的(Deuschle等2004)。脯氨酸的这种抑制作用可能是由某种信号转导途径介导的。对拟南芥转录谱的研究表明,脯氨酸处理可诱导一些和逆境防御与信号转导相关基因的表达。而本研究也证实,脯氨酸处理诱导了植物体内胁迫响应基因的表达,触发了胁迫响应机制(图5)。脯氨酸对植物生长的抑制作用对了解脯氨酸在逆境中的作用也有启发,即脯氨酸对逆境中植物的保护作用可能是通过抑制其生长来达到的(Maggio等2002)。

脯氨酸及其代谢产物在体内诱导ROS产生以调节细胞程序化死亡(Maxwell和Rivera 2003)和作为信号分子调节一部分神经传递在医学研究中已有报道(Donald等2001)。医学上很多研究发现脯氨酸及脯氨酸氧化酶(proline oxidase, POX; 即植物中的PDH)能引起细胞凋亡,在癌细胞的研究中都发现了由脯氨酸氧化酶诱导的细胞凋亡现象,在脯氨酸经脯氨酸氧化酶氧化产生P5C的过程中能释放出一些超氧化物,导致细胞内氧化水平的平衡被打破,经由内在的线粒体途径及外在的死

亡受体途径介导而诱发细胞凋亡(Liu等2006);也有研究认为脯氨酸可以抑制ROS引起的细胞凋亡(Chen和Dickman 2005)。本研究结果初步表明脯氨酸可能通过ROS的作用对植物生长产生抑制作用。这将有助于在更广泛的意义上了解小分子渗透调节物质在植物生长发育中的调节作用。同时,对脯氨酸作用机理的研究还有助于了解脯氨酸在维持碳氮平衡、抵抗环境逆境和逆境恢复中的作用,为更好地设计抗逆植物和抗逆植物育种提供理论依据。

参考文献

- Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39 (1): 205–207
- Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann Bot-London*, 103 (4): 551–560
- Chen CB, Dickman MB (2005). Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (9): 3459–3464
- Dar MI, Naikoo MI, Rehman F, Naushin F, Khan FA (2016). Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. In: Iqbal N, Nazar R, Khan NA (eds). *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*. New Delhi: Springer India, 155–166
- Deng FF, Yang SL, Gong M (2015). Regulation of cell signaling molecules on proline metabolism in plants under abiotic stress. *Plant Physiol J*, 51 (10): 1573–1582 (in Chinese with English abstract) [邓凤飞, 杨双龙, 龚明(2015). 细胞信号分子对非生物胁迫下植物脯氨酸代谢的调控. *植物生理学报*, 51 (10): 1573–1582]
- 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
- Donald SP, Sun XY, Hu CAA, Yu J, Mei JM, Valle D, Phang JM (2001). Proline oxidase, encoded by p53-induced gene-6, catalyzes the generation of proline-dependent reactive oxygen species. *Cancer Res*, 61 (5): 1810–1815
- Giannopolitis CN, Ries SK (1977). Superoxide dismutases occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 59: 309–314
- Kishor PBK, Hong ZL, Miao GH, Hu CAA, Verma DPS (1995). Overexpression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiol*, 108 (4): 1387–1394
- Li HY, Li DH (2014). Expression of *AtP5CS1* gene enhanced drought tolerance of transgenic *Brassica oleracea* plants. *Plant Physiol J*, 50 (7): 1009–1013 (in Chinese with English abstract) [李鸿雁,

- 李大红(2014). 转拟南芥*P5CS1*基因增强羽衣甘蓝的耐旱性. 植物生理学报, 50 (7): 1009–1013]
- Liao JH (2015). Analysis of peroxidase activity of wheat seed. Chin Agric Bull, 31 (21): 123–129 (in Chinese with English abstract) [廖金花(2015). 小麦种子过氧化物酶活性分析. 中国农学通报, 31 (21): 123–129]
- Liu Y, Borchert GL, Surazynski A, Hu CA, Phang JM (2006). Proline oxidase activates both intrinsic and extrinsic pathways for apoptosis: the role of ROS/superoxides, NFAT and MEK/ERK signaling. Oncogene, 25 (41): 5640–5647
- Lu Z, Liu D, Liu S (2007). Two rice cytosolic ascorbate peroxidases differentially improve salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*. Plant Cell Rep, 26: 1909–1917
- Maggio A, Miyazaki S, Veronese P, Fujita T, Ibeas JI, Damsz B, Narasimhan ML, Hasegawa PM, Joly RJ, Bressan RA (2002). Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? Plant J, 31 (6): 699–712
- Mani S, Van de Cotte B, 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, 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: 277–288
- Maxwell SA, Rivera A (2003). Proline oxidase induces apoptosis in tumor cells, and its expression is frequently absent or reduced in renal carcinomas. J Biol Chem, 278 (11): 9784–9789
- Nanjo T, Fujita M, Seki M, Kato T, Tabata S, Shinozaki K (2003). Toxicity of free proline revealed in an *Arabidopsis* T-DNA-tagged mutant deficient in proline dehydrogenase. Plant Cell Physiol, 44 (5): 541–548
- Schat H, Sharma SS, Vooijs R (1997). Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. Physiol Plantarum, 101 (3): 477–482
- Schmittgen TD, Livak KJ (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative C_T method. Nat Protoc, 3 (6): 1101–1108
- Sun JB, Wang JX (2010). Study on method for determination of chlorophyll in cherry leaves. J Shanxi Agric Sci, 38 (3): 18–19, 33 (in Chinese with English abstract) [孙俊宝, 王建新(2010). 樱桃叶绿素含量测定方法研究. 山西农业科学, 38 (3): 18–19, 33]
- Tavakoli M, Poustini K, Alizadeh H (2016). Proline accumulation and related genes in wheat leaves under salinity stress. J Agric Sci Tech, 18: 707–716
- Thordal-Christensen H, Zhang ZG, Wei YD, Collinge DB (1997). Subcellular localization of H_2O_2 in plants. H_2O_2 accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. Plant J, 11 (6): 1187–1194
- Wu HH, Zou YN, Rahman MM, Ni QD, Wu QS (2017). Mycorrhizas alter sucrose and proline metabolism in trifoliolate orange exposed to drought stress. Sci Rep, 7: 42389
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1994). A novel *cis*-acting element in an *Arabidopsis* gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. Plant Cell, 6 (2): 251–264
- Yang SL, Lan SS, Gong M (2009). Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings. J Plant Physiol, 166 (15): 1694–1699

Proline inhibits plant growth by reactive oxygen species signaling

WANG Cui-Ping^{1,*}, YAN Li^{1,2}, QIAO Gai-Xia¹, LI Jian¹

¹State Key Laboratory of the Seedling Bioengineering, Ningxia Forestry Institute, Yinchuan 750004, China; ²College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

Abstract: In order to explore the inner mechanism of the inhibiting effect, three different *Arabidopsis* lines, including wild type (WT), *pdh* mutant (*pdh*) and proline dehydrogenase gene (*PDH*) over-expressed line (PDH-S), with different concentrations of proline were used in this study. And the sensitivity of *Arabidopsis* lines to proline, H₂O₂ content and differences of antioxidant enzyme activities in *Arabidopsis* lines, as well as the expression of stress-responsive genes in WT line under proline stress were detected. Results showed that the sensitivity of three lines to proline presented as *pdh* > WT > PDH-S. H₂O₂ content was *pdh* < WT = PDH-S, while antioxidant enzyme activities presented as PDH-S > WT > *pdh* after proline treatment. Moreover, stress-responsive genes were expressed under proline treatment in WT line. This study indicated that the inhibition to plants incurred by proline directly rather than its metabolites, and proline might inhibit plant growth by reactive oxygen species (ROS) signaling. This finding will be helpful to understand the role of proline in plant growth and recovery under stress condition, and provide a basis for plant breeding.

Key words: proline; reactive oxygen species; growth and development; inhibitory effects

Received 2017-06-19 Accepted 2017-09-15

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

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