

PEG 胁迫及复水对不同抗旱性小麦幼苗 脯氨酸代谢关键酶活性的影响

姜淑欣¹, 刘党校¹, 庞红喜², 吕金印^{1*}

(1 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西杨陵 712100; 2 西北农林科技大学 农学院, 陕西杨陵 712100)

摘要:以两种不同抗旱性小麦品种幼苗为试验材料, 采用 PEG 模拟干旱胁迫处理, 探究干旱胁迫及复水对小麦幼苗叶片与根系脯氨酸累积及关键酶活性的影响。结果显示: (1) PEG 胁迫下抗旱品种‘普冰 143’根长和根干重下降不大, 而水敏感品种‘郑引 1 号’根长和根干重下降显著; 且于胁迫处理 36 h 时‘普冰 143’根系脯氨酸含量增加(75.0%)显著大于‘郑引 1 号’(37.7%), 复水 24 h 后均恢复至对照水平。(2) PEG 胁迫下‘普冰 143’叶片中谷氨酸合成途径关键酶 P5CS 和鸟氨酸合成途径关键酶 δ -OAT 活性均显著增加, 且‘普冰 143’叶片脯氨酸两条合成途径关键酶活性均得以加强; PEG 胁迫处理 36 h 时, ‘郑引 1 号’叶片中 P5CS 活性增加显著, δ -OAT 活性变化较小, 且‘郑引 1 号’叶片脯氨酸合成可能以谷氨酸途径为主; 但在 PEG 胁迫下两个不同抗旱性品种的根中 P5CS、 δ -OAT 活性均变化较小。(3) PEG 胁迫处理 36 h 时‘普冰 143’叶片脯氨酸降解酶 PDH 活性显著下降, 而‘郑引 1 号’叶片 PDH 活性显著增加, 复水后抗旱品种叶片该酶活性显著增加, 水敏感品种恢复至对照水平; 但 PEG 胁迫处理下两个不同抗旱性品种的根中 PDH 活性均显著下降。研究表明, PEG 胁迫下小麦叶片是合成脯氨酸的主要部位, 抗旱品种‘普冰 143’根系脯氨酸持续积累与叶片中高的脯氨酸合成关键酶活性及脯氨酸转运有关。

关键词:PEG 胁迫; 小麦; 吡咯啉-5-羧酸合成酶; 鸟氨酸 δ -氨基转移酶; 脯氨酸脱氢酶

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Effects of PEG Stress and Recovery on Activities of Key Enzymes Involved in Proline Metabolism in Wheat Cultivars with Difference in Drought Tolerance

JIANG Shuxin¹, LIU Dangxiao¹, PANG Hongxi², LÜ Jinyin^{1*}

(1 College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2 College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: The contents of proline and activities of key enzymes involved in proline metabolism in the leaves and roots were investigated for two wheat cultivar seedlings (differing in drought tolerance) exposed to PEG-6000 stress and recovery. The results showed that: (1) The root length and the root dry weight of ‘Pubing 143’ (drought tolerant) were little affected little by PEG stress, whereas the root length and the root dry weight of ‘Zhengyin 1’ (drought sensitive) decreased significantly. Under PEG stress the increasing range(75.0%) of proline content in the roots of ‘Pubing 143’ was more than that in ‘Zhengyin 1’ (37.7%) at 36 h and the proline contents of both genotypes tended to be equal to their respective control after recovery from drought; (2) The activities of P5CS (synthesize proline from glutamate) and δ -OAT

收稿日期: 2014-03-14; 修改稿收到日期: 2014-06-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31271624)

作者简介: 姜淑欣(1988—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物抗旱生理及分子机制研究。E-mail: shuxinjiang@163.com

* 通信作者: 吕金印, 博士, 教授, 主要从事植物抗逆生理和核农学研究。E-mail: Jinyinlu@163.com

(synthesize proline from ornithine) increased significantly in the leaves of ‘Pubing 143’ under PEG stress, which indicated that two biosynthetic pathways were enhanced in the drought-tolerance cultivar ‘Pubing 143’ under PEG stress. P5CS activity increased while the change of δ -OAT activity was not obvious in ‘Zhengyin 1’ at 36 h, which indicated that the leaves of drought-sensitive cultivar ‘Zhengyin 1’ synthesized proline from ornithine primarily under PEG stress. Under PEG stress the activities of P5CS and δ -OAT were less affected in both wheat varieties roots; (3) PDH activity had a significant decrease at 36 h under PEG stress and increased significantly after recovery in the leaves of ‘Pubing 143’. PDH activity increased significantly compared with control in leaves of ‘Zhengyin 1’ under PEG stress. However, the activity of PDH decreased significantly in both wheat varieties roots. These results suggested that proline was mainly synthesized in the leaves of wheat and the accumulation of proline in the roots of ‘Pubing 143’ was associated with increased P5CS activity in leaves and transport of proline.

Key words: PEG stress; wheat; P5CS; δ -OAT; PDH

干旱是影响农作物生长和产量的主要环境因子之一。逆境胁迫下,植物细胞积累的渗透调节物质使细胞维持一定的膨压,以保证植物气孔运动和光合作用等生理过程的正常进行^[1]。脯氨酸作为一种重要的渗透性调节物质,以游离状态存在于植物细胞中,具有分子量低、水溶性高,以及在生理 pH 范围内无静电荷等特点^[2]。植物体内游离脯氨酸在逆境胁迫下大量积累^[3,4],当从胁迫条件恢复正常时,脯氨酸又可作为碳氮源并提供能量^[5-6]。植物体内脯氨酸的积累与其合成、降解和不同器官间的运输有关,脯氨酸合成途径包括谷氨酸途径和鸟氨酸途径^[3]。吡咯琳-5-羧酸合成酶(Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase, P5CS)和鸟氨酸 δ -氨基转移酶(ornithine δ -aminotransferase, δ -OAT)分别是两条合成途径的关键酶^[3,7]。脯氨酸脱氢酶(proline dehydrogenase, PDH)催化脯氨酸生成 Δ^1 -二氢吡咯-5-羧酸的反应,是脯氨酸降解过程的限速步骤^[5]。关于逆境下植物脯氨酸的累积,前人做了大量研究。如胁迫条件下普通菜豆幼苗叶和根中脯氨酸合成酶基因 *PvP5CS2* 的转录水平快速上升^[8];转 δ -OAT 基因烟草合成的脯氨酸在无胁迫时比对照高 3 倍,而在 NaCl 胁迫下积累的脯氨酸比对照高 1.5 倍^[9];水稻幼苗在水分胁迫下脯氨酸的累积与两条途径均有关^[10]。同时,不同植物、不同组织、不同生理条件下两条合成途径对脯氨酸积累的贡献大小存在差异^[11]。植物叶片与根部脯氨酸的积累与器官间转运有关,禾本科植物割手密(*Saccharum spontaneum* Linn)中叶片是合成脯氨酸的主要部位,并在合成后迅速转运到茎和根中^[12]。朱慧森^[13]的研究也认为,长时间 PEG 胁迫下偏关苜蓿地上部分为脯氨酸合成的主要部位。盐胁迫下芨芨草叶片中脯氨酸的大量积累被认为是根中的脯氨酸运输到叶片

中^[14]。可见,不同植物脯氨酸的主要合成部位有差异,而干旱胁迫下小麦(*Triticum aestivum*)幼苗叶片与根系脯氨酸积累及转运方式还不十分清楚,特别是对于不同抗旱性小麦幼苗干旱胁迫下脯氨酸累积过程中两条合成途径的作用与贡献还需进一步研究。因此,本研究采用聚乙二醇(PEG-6000)模拟干旱胁迫,测定不同抗旱性小麦品种幼苗叶片和根中脯氨酸含量及其合成与降解关键酶 P5CS、 δ -OAT、PDH 活性的变化,探讨 PEG 胁迫下小麦幼苗叶片和根系脯氨酸代谢关键酶活性变化规律,为揭示逆境下不同抗旱性小麦、不同器官间脯氨酸代谢途径差异及酶活调控机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试的两个小麦品种分别为抗旱性较强的‘普冰 143’和水分敏感的‘郑引 1 号’,种子由西北农林科技大学农学院提供。

1.2 试验设计

选择籽粒饱满、均匀一致的小麦种子,经 0.1% HgCl_2 消毒 10 min,用蒸馏水清洗数次,将种子放入铺有纱布的培养皿中,置于 25 °C 恒温培养箱中,保持纱布湿润。待种子萌发后,选择露白一致的种子转移到置有尼龙网的塑料盒(19 cm×11 cm×6 cm)中,每盒放置 80 粒种子。先用蒸馏水培养 2 d,再换用 1/2 Hoagland 营养液,每 2 d 换 1 次营养液,昼/夜温度为 25 °C/20 °C,光/暗周期为 14 h/10 h,光强为 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。培养至两叶一心期时,用 20% PEG-6000 进行胁迫处理,处理 36 h 后将小麦根部 PEG 冲洗干净,换用 1/2 Hoagland 营养液复水,每处理设置 3 次重复。其中,在水分胁迫处理 0 h(胁迫前)、36 h(胁迫结束)及复水 24 h

(复水结束)分别取样测定幼苗生长指标和叶片相对含水量,在水分胁迫处理 0、6、12、24、36 h 以及复水 12、24 h 分别对叶片和根系采样,测定样品的脯氨酸含量及其代谢关键酶活性。

1.3 测定项目及方法

分别在水分胁迫前、胁迫结束和复水结束后取样,用直尺测定幼苗株高、根长。105 ℃ 杀青 15 min,80 ℃ 烘干至恒重,分别测定地上部和根部干重,同时采用饱和称重法测定叶片相对含水量(RWC)^[15]。每处理测定 3 株,取平均值。

脯氨酸含量测定采用酸性茚三酮显色法^[15]。酶液提取参照 Lutts 等^[16]方法。P5CS 活性测定采用 Garcia-Rios 等^[17]方法:在 100 mmol·L⁻¹ Tris-HCl(pH 7.2)缓冲液(包含 25 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 75 mmol·L⁻¹ 谷氨酸,5 mmol·L⁻¹ ATP,0.4 mmol·L⁻¹ NADPH)加入粗酶液启动反应,340 nm 下测定吸光值的减少量。δ-OAT 活性测定采用 Charest 等^[18]的方法:在 0.2 mol·L⁻¹ Tris-KOH(pH 8.0)缓冲液(包含 5 mmol·L⁻¹ 鸟氨酸,10 mmol·L⁻¹ α-酮戊二酸,0.25 mmol·L⁻¹ NADH)加入粗酶液启动反应,340 nm 下测定吸光值的减少量。PDH 活性测定采用 Lutts 等^[16]方法:在 0.15 mol·L⁻¹ Na₂CO₃-HCl(pH 10.3)缓冲液(包含 15 mmol·L⁻¹ L-脯氨酸和 1.5 mmol·L⁻¹ NAD⁺)加入粗酶液启动反应,340 nm 下测定吸光值的增加量。以上指标每处理重复测定 3 次。

1.4 数据处理

试验数据采用 Microsoft Office Excel 2010 及

SPSS 18.0 统计软件进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 PEG 胁迫及复水对不同抗旱性小麦叶片相对含水量及生长特性的影响

如表 1 所示,PEG 胁迫处理 36 h 后,两品种幼苗叶片相对含水量(RWC)均比对照显著降低,且抗旱品种‘普冰 143’幼苗叶片 RWC 下降(4.3%)显著小于水敏感品种‘郑引 1 号’(9.1%),复水 24 h 后均恢复到对照水平。与对照相比,‘普冰 143’株高与地上部干重在 PEG 胁迫 36 h 后的降幅(分别为 6.3% 和 7.1%)均小于‘郑引 1 号’(10.2% 和 14.5%)。复水 24 h 后,‘郑引 1 号’株高恢复接近对照水平,而其地上部干重比对照显著下降了 6.9%;‘普冰 143’株高也与对照无显著差异,但其地上部干重比对照显著下降了 7.9%。‘普冰 143’幼苗根长与根干重受 PEG 胁迫 36 h 后的降幅不大,而‘郑引 1 号’根长和根干重受 PEG 胁迫 36 h 分别比对照显著下降了 12.5% 和 11.3%,复水 24 h 后仍不能恢复至对照水平。可见,20% PEG 胁迫下抗旱小麦品种幼苗生长几乎不受影响,而水敏感品种幼苗生长受到显著抑制,进一步证明‘普冰 143’小麦的抗旱性明显强于‘郑引 1 号’。

2.2 PEG 胁迫及复水对不同抗旱性小麦脯氨酸含量的影响

随着 PEG 胁迫时间的延长,两品种小麦叶片与根系中脯氨酸含量均呈上升趋势,复水后下降至接近对照水平(图 1)。其中,胁迫 6 h 后,两小麦品种

表 1 PEG 胁迫及复水对小麦幼苗叶片相对含水量及生长特性的影响

Table 1 Effects of PEG stress and recovery on the RWC and growth indicators in the wheat seedling

品种 Variety	处理 Treatment	处理时间 Treatment duration/h	相对含水量 RWC/%	株高 Plant height /cm	根长 Root length /cm	地上部干重 Shoot dry weight /(mg·plant ⁻¹)	根干重 Root dry weight /(mg·plant ⁻¹)
普冰 143 Pubing 143	对照 CK	0	93.10±2.00a	20.36±0.87e	15.50±0.36f	17.1±0.6h	6.7±0.2bc
		36	93.96±1.68a	24.16±0.85abc	17.28±0.42bc	21.1±0.6de	7.9±0.3a
		R24	93.73±1.50a	25.02±0.99ab	17.92±0.42b	23.9±0.7ab	8.1±0.2a
	处理 T	0	94.46±1.20a	20.39±0.91e	15.48±0.30f	17.7±0.9gh	6.8±0.3bc
		36	89.89±0.92b	22.63±0.74cd	17.04±0.46cd	19.6±0.8ef	7.8±0.2a
		R24	93.53±1.75a	23.34±0.90bc	17.84±0.24b	22.0±0.7dc	8.0±0.5a
郑引 1 号 Zhengyin 1	对照 CK	0	93.91±1.18a	21.08±1.03de	16.02±0.42ef	18.1±0.6fgh	5.2±0.4d
		36	94.50±1.06a	25.41±0.53a	18.68±0.25a	22.1±0.7cd	6.2±0.4c
		R24	93.93±1.41a	25.94±0.63a	18.95±0.29a	24.8±0.9a	6.9±0.2b
	处理 T	0	94.13±0.77a	21.19±0.92de	15.92±0.42ef	18.2±0.5fgh	5.1±0.3d
		36	85.93±1.81c	22.82±0.95cd	16.34±0.24de	18.9±0.9fg	5.5±0.2d
		R24	94.34±1.34a	25.30±0.90a	17.48±0.34bc	23.1±0.6bc	6.2±0.2c

注:R24 表示复水 24 h;同列中的不同字母表示处理间差异达 0.05 显著水平。

Note:R24 stand for recovery for 24 hours after drought stress;Different letters indicate significant differences among treatments at 0.05 level according to Duncan’s multiple range test(P<0.05).

叶片脯氨酸含量便达到最大累积量,抗旱品种‘普冰143’和水敏感品种‘郑引1号’分别比对照增加了59.3%和61.8%。复水24 h后,两小麦品种叶片脯氨酸含量下降至对照水平。而两品种根系中脯氨酸持续积累至胁迫36 h时达到最大累积量(图1),抗旱品种‘普冰143’和水敏感品种‘郑引1号’分别比对照增加了75.0%和37.7%。复水12 h后,‘普冰143’根系脯氨酸含量便迅速下降;复水24 h后两小麦品种根系脯氨酸含量均下降至对照水平。可见,PEG胁迫下抗旱小麦品种根系通过累积大量脯氨酸来提高其对渗透胁迫的适应能力。

2.3 PEG胁迫及复水对不同抗旱性小麦脯氨酸代谢关键酶活性的影响

2.3.1 P5CS活性

P5CS是脯氨酸谷氨酸合成途径的关键酶。PEG胁迫处理下两个小麦品种叶片P5CS活性均显著增加(图2)。其中,干旱胁迫处理6 h后,品种‘普冰143’和‘郑引1号’叶片P5CS活

性分别比对照增加了25.3%和33.9%;在胁迫处理36 h后,品种‘普冰143’和‘郑引1号’叶片P5CS活性分别比对照增加了36.3%和32.8%;复水后,两小麦品种叶片P5CS活性持续增加,至复水24 h时‘普冰143’叶片P5CS活性仍保持在较高水平,而‘郑引1号’叶片P5CS活性下降至对照水平。同时,在干旱胁迫条件下,抗旱品种‘普冰143’根系P5CS活性与对照差异不显著($P>0.05$),而水敏感品种‘郑引1号’根系P5CS活性比对照显著下降(图2)。如胁迫处理6 h和36 h后‘郑引1号’根系P5CS活性分别比对照下降了17.1%和17.0%;复水后两小麦品种根系P5CS活性均恢复至对照水平。可见,PEG胁迫下P5CS对小麦幼苗叶片脯氨酸合成有一定贡献,而对根系脯氨酸累积的贡献不大。

2.3.2 δ -OAT活性

δ -OAT是脯氨酸鸟氨酸合成途径的关键酶。在PEG胁迫处理条件下,抗旱品种

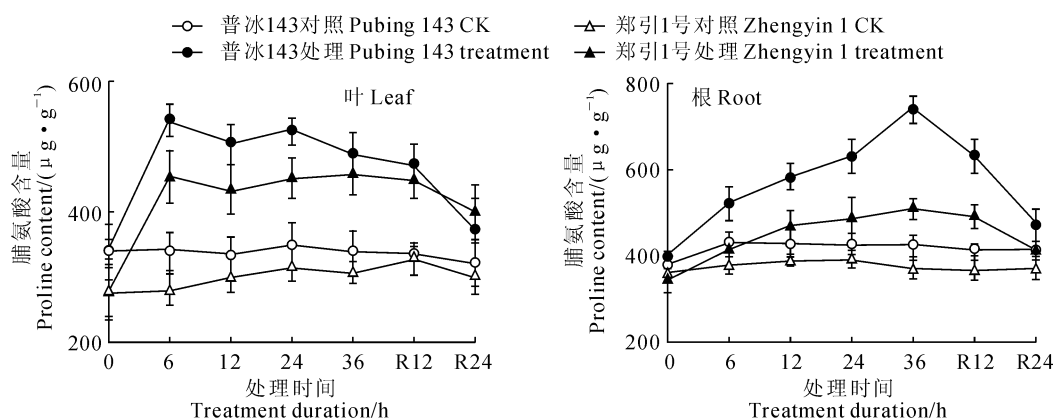


图1 PEG胁迫及复水对小麦幼苗脯氨酸含量的影响

R12和R24分别表示复水12和24 h;下同

Fig. 1 Effects of PEG stress and recovery on the proline content in the wheat seedling

R12 and R24 stand for recovery for 12 and 24 hours after drought stress; The same as below

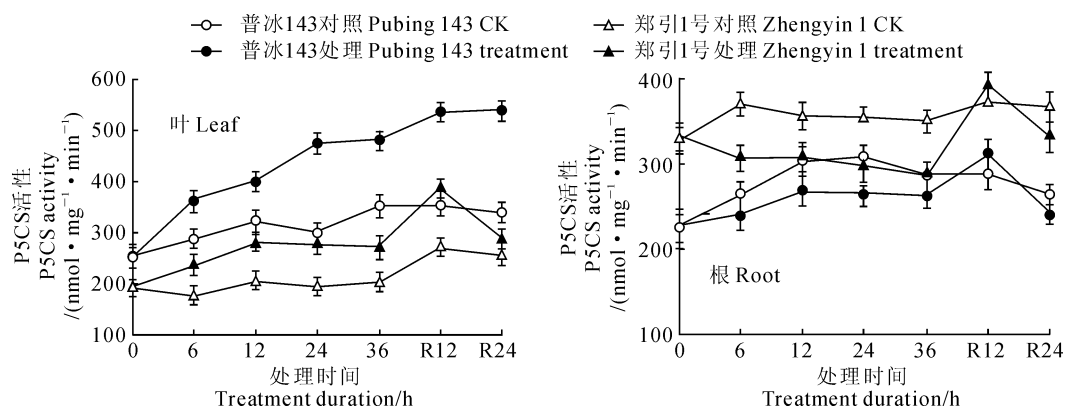


图2 PEG胁迫及复水对小麦幼苗P5CS活性的影响

Fig. 2 Effects of PEG stress and recovery on the P5CS activity in the wheat seedling

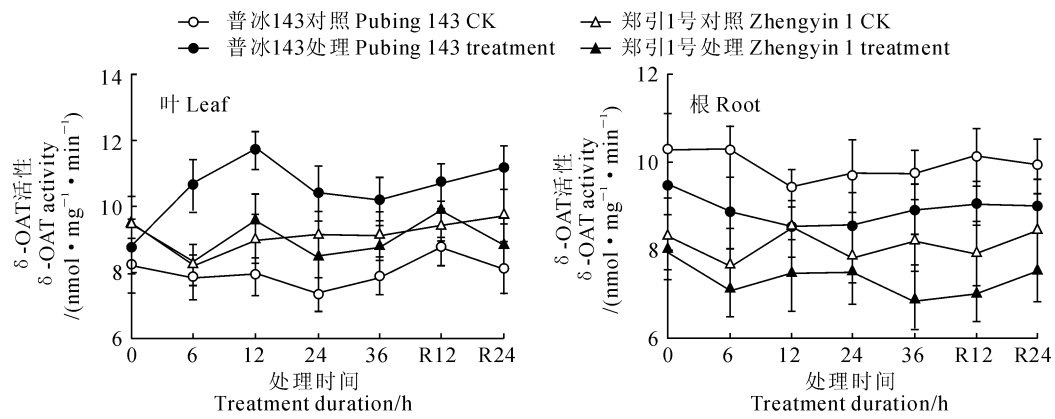


图 3 PEG 胁迫及复水对小麦幼苗 δ -OAT 活性的影响

Fig. 3 Effects of PEG stress and recovery on the δ -OAT activity in the wheat seedli

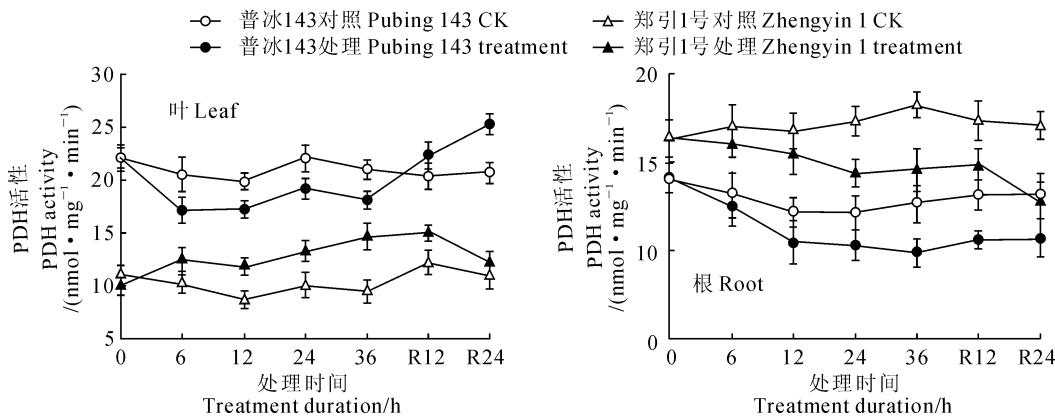


图 4 PEG 胁迫及复水对小麦幼苗 PDH 活性的影响

Fig. 4 Effects of PEG stress and recovery on the PDH activity in the wheat seedling

‘普冰 143’叶片 δ -OAT 活性显著增加,而水敏感品种‘郑引 1 号’叶片 δ -OAT 活性与对照相比差异不显著($P>0.05$)(图 3)。其中,‘普冰 143’叶片 δ -OAT 活性在胁迫处理 36 h 后与对照相比增加了 29.0%,并持续到复水 24 h。同时,在干旱胁迫处理下,两小麦品种根系 δ -OAT 活性与对照相比均差异不显著(图 3)。可见,PEG 胁迫下小麦根系脯氨酸合成关键酶 δ -OAT 活性变幅较小,其大量积累的脯氨酸可能与叶片脯氨酸合成与转运密切相关。

2.3.3 PDH 活性 PDH 是脯氨酸降解过程中的关键酶。PEG 胁迫处理下,抗旱品种‘普冰 143’叶片 PDH 活性比对照明显降低,但在复水后明显增加,而水敏感品种‘郑引 1 号’叶片 PDH 活性比对照明显增加,复水后接近对照水平(图 4)。其中,‘普冰 143’叶片 PDH 活性在干旱胁迫处理 6 h 和 36 h 时分别比对照下降了 16.6%和 13.7%,至复水 24 h 时比对照增加 22.1%;‘郑引 1 号’叶片 PDH 活性在胁迫处理 6 h 之前与对照相比差异不显著($P>0.05$),胁迫处理 36 h 时比对照增加了 53.8%,复

水 24 h 时又降至对照水平。与叶片相比,PEG 胁迫下两小麦品种根系 PDH 活性均显著下降,且降幅随胁迫时间延长而逐渐增大,复水 24 h 后仍未恢复到正常水平(图 4)。其中,‘普冰 143’和‘郑引 1 号’两小麦品种根系 PDH 活性在胁迫处理 36 h 时分别比对照下降了 36.4%和 28.2%。可见,小麦幼苗脯氨酸累积受到脯氨酸降解关键酶 PDH 的调节,特别是抗旱品种叶片中 PDH 活性变化对脯氨酸累积具有积极意义。

3 讨论

3.1 小麦幼苗不同器官脯氨酸含量对 PEG 胁迫及复水的响应特征

渗透胁迫下,高脯氨酸含量有助于保持蛋白和细胞膜稳定性,维持亚细胞结构,并通过清除活性氧保护细胞功能^[19-20]。杨颖丽等^[21]的研究表明,不同抗旱性小麦在盐胁迫下叶片和根中脯氨酸含量显著增加。本试验中,PEG 胁迫处理下不同抗旱性小麦叶片脯氨酸均迅速积累,胁迫处理 6 h 时达到最大

值并保持稳定,且小麦品种间叶片脯氨酸增幅差异不大。而小麦根系中脯氨酸至胁迫处理 36 h 仍持续积累,并且抗旱品种‘普冰 143’增幅(75.0%)明显高于水敏感品种‘郑引 1 号’(37.7%)。根系是植物吸收水分与营养物质的主要器官,渗透胁迫下抗旱品种‘普冰 143’根系积累更多的脯氨酸,维持了根系的正常生长,可能是其具有高抗旱性的原因之一。同时,本实验中复水后不同抗旱性小麦叶片和根系中脯氨酸含量均下降至对照水平,这与赵丽英对玉米幼苗研究结果类似^[22]。复水后脯氨酸迅速降解可以为植株生长提供能量,表现出植株从逆境中恢复的一种补偿效应。

3.2 小麦幼苗脯氨酸关键代谢酶活性对 PEG 胁迫及复水的响应特征

不同植物、不同组织器官以及不同生理条件下脯氨酸积累的代谢途径各不相同。高等植物中, P5CS 作为脯氨酸的谷氨酸合成途径限速酶并受脯氨酸的反馈抑制^[23]。干旱胁迫下水稻幼苗叶片脯氨酸含量和 P5CS 活性同步增加,并且耐旱品种增加幅度更大^[24]。Roosens 等^[25]对不同生育期植物脯氨酸积累途径的研究发现,幼小植株以鸟氨酸途径为主,成年植株以谷氨酸途径为主,而在渗透胁迫条件下两条途径发挥着同样重要的作用。本试验中,PEG 胁迫下抗旱品种‘普冰 143’叶片 P5CS(谷氨酸途径关键酶)、 δ -OAT(鸟氨酸途径关键酶)活性均显著增加,表明胁迫下抗旱品种两条脯氨酸合成途径都得到加强。而 PEG 胁迫下水敏感品种‘郑引 1 号’叶片的 P5CS 活性显著增加,其 δ -OAT 活性变幅较小,表明水敏感品种在 PEG 胁迫下叶片脯氨酸合成以谷氨酸途径为主。PDH 是植物体内脯氨酸降解途径的关键酶,正常条件下脯氨酸作为反馈调节物质诱导 PDH 的表达,胁迫条件下 PDH 表达却受到抑制,从而使脯氨酸积累,起到抵抗胁迫的

作用^[26-27]。本试验中,PEG 胁迫诱导抗旱品种‘普冰 143’叶片 PDH 活性降低,复水后又显著增加,而水敏感品种‘郑引 1 号’叶片 PDH 活性在 PEG 胁迫下显著增加,复水后又降低。因此,PEG 胁迫和复水对小麦叶片脯氨酸累积的影响是合成和降解综合作用的结果。

本研究中 PEG 胁迫下两小麦品种根系脯氨酸代谢关键酶活性,除‘郑引 1 号’的 P5CS 活性下降外,其余脯氨酸合成途径关键酶活性变幅不明显,降解途径关键酶 PDH 活性显著下降。有研究表明,在植物的根中脯氨酸合成途径和降解途径对脯氨酸积累的贡献极小,脯氨酸积累主要靠外源脯氨酸的转运^[28]。PEG 胁迫下抗旱品种‘普冰 143’根系脯氨酸合成酶活性增幅不明显,但其脯氨酸含量持续积累,同时伴随着叶片脯氨酸合成酶活性增加,脯氨酸含量维持稳定,可能是叶片中脯氨酸向根系中转运的结果,这与丁灿等^[12]和朱慧森等^[13]的研究结果一致。脯氨酸通过脯氨酸转运蛋白(ProT)特异性地转运到作用部位^[29]。Ueda 等^[30]从大麦根部克隆得到 *HvProT* 的 cDNA,盐胁迫 30 min 后根部 *HvProT* 即被诱导表达,而叶中 *HvProT* 的转录水平一直很低。沈义国等^[31]用从榆钱菠菜中克隆得到的 *AhProT1* 基因转化拟南芥发现,转基因植株比对照在根中积累更多的脯氨酸。而目前有关小麦脯氨酸转运蛋白及脯氨酸转运机制的报道较少,尚有待进一步研究。

综上所述,小麦幼苗脯氨酸积累受到合成与降解途径的共同调节,谷氨酸途径和鸟氨酸途径在合成过程中均发挥重要作用,但在 PEG 胁迫下谷氨酸途径贡献较大,抗旱品种‘普冰 143’叶片中鸟氨酸途径具有一定贡献;PEG 胁迫下小麦幼苗中叶片是合成脯氨酸的主要部位,抗旱品种‘普冰 143’根系可能通过转运而积累更多的脯氨酸。

参考文献:

- [1] HARE P D, CRESS W A, VAN STADEN J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress[J]. *Plant, Cell & Environment*, 1998, **21**(6): 535—553.
- [2] JIAO R(焦 蓉), LIU H B(刘好宝), LIU G SH(刘贯山), et al. Discussion of accumulation of proline and its relationship with osmotic stress tolerance of plants[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报), 2011, **27**(7): 216—221(in Chinese).
- [3] SZABADOS L, SAVOURE A. Proline: a multifunctional amino acid[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, **15**(2): 89—97.
- [4] YAZICI I, TÜRKAN I, SEKMEN A H, et al. Salinity tolerance of purslane(*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, **61**(1): 49—57.
- [5] KISHOR P B K, SANGAM S, AMRUTHA R N, et al. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance[J]. *Current Science*, 2005, **88**(3): 424—438.
- [6] RIBARITS A, ABDULLAEV A, TASHPULATOV A, et al. Two tobacco proline dehydrogenases are differentially regulated and play a

- role in early plant development[J]. *Planta*, 2007, **225**(5): 1 313—1 324.
- [7] STRIZHOV N, ABRANHAM E, ÖKRESZ L, *et al.* Differential expression of two P5CS genes controlling proline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1 and AXR2 in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 1997, **12**(3): 557—569.
- [8] CHEN J B(陈吉宝), JING R L(景蕊莲), MAO X G(毛新国), *et al.* A response of *PvP5CS2* gene to abiotic stresses in common bean[J]. *Acta Agronomica Sinica*(作物学报), 2008, **34**(7): 1 121—1 127(in Chinese).
- [9] ROOSENS N H, AL BITAR F, LOENDERS K, *et al.* Overexpression of ornithine- δ -aminotransferase increases proline biosynthesis and confers osmotolerance in transgenic plants[J]. *Molecular Breeding: New Strategies in Plant Improvement*, 2002, **9**(2): 73—80.
- [10] ZHAO G L(赵贵林), CHEN Q(陈 强), HU G X(胡国霞), *et al.* Responses of the key enzymes involved in proline metabolism in rice seedling under water stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*(干旱地区农业研究), 2011, **29**(3): 80—83(in Chinese).
- [11] ZHAO F G(赵福庚), LIU Y L(刘友良), *et al.* Advance in study on metabolism and regulation of proline in higher plants under stress[J]. *Chinese Bulletin of Botany*(植物学通报), 1999, **16**(5): 540—546(in Chinese).
- [12] DING C(丁 灿), YANG Q H(杨清辉), LI F SH(李富生), *et al.* Effects of cold stress on the content of free-proline in leaves of *Saccharum spontaneum* L. and *Sclerostachya*[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*(热带作物学报), 2005, **26**(4): 52—56(in Chinese).
- [13] ZHU H S(朱慧森), LIU Y X(刘艳香), DONG K H(董宽虎), *et al.* Effect of PEG stress on key enzymes involved in proline metabolism of *Medicago sativa* cv. *Pianguan*[J]. *Acta Agrestia Sinica*(草地学报), 2011, **19**(6): 1 000—1 004(in Chinese).
- [14] DONG Q L(董秋丽), XIA F SH(夏方山), DONG K H(董宽虎), *et al.* Effects of NaCl stress on proline metabolism of *Achnatherum splendens* seedling[J]. *Acta Agrestia Sinica*(草地学报), 2010, **19**(5): 71—76(in Chinese).
- [15] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 15—16, 228—231.
- [16] LUTTS S, MAJERUS V, KINET J M. NaCl effects on proline metabolism in rice(*Oryza sativa*) seedlings[J]. *Physiologia Plantarum*, 1999, **105**(3): 450—458.
- [17] GARCIA-RIOS M, FUJITA T, LAROSA P C, *et al.* Cloning of a polycistronic cDNA from tomato encoding γ -glutamyl kinase and γ -glutamyl phosphate reductase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, **94**(15): 8 249—8 254.
- [18] CHAREST C, TON PHAN C. Cold acclimation of wheat(*Triticum aestivum*): Properties of enzymes involved in proline metabolism[J]. *Physiologia Plantarum*, 1990, **80**(2): 159—168.
- [19] MATYSIK J, BHALU B, MOHANTY P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants[J]. *Current Science*, 2002, **82**(5): 525—532.
- [20] CHAVES M M, FLEXAS J, PINHEIRO C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell[J]. *Annals of Botany*, 2009, **103**(4): 551—560.
- [21] YANG Y L(杨颖丽), ZHANG Q(张 菁), *et al.* Effects of salt stress on osmolyte and proline metabolism in two wheat seedlings[J]. *Journal of Northwest Normal University*(Nat. Sci. Edi.) (西北师范大学学报·自然科学版), 2013, **49**(1): 72—77(in Chinese).
- [22] ZHAO L Y(赵丽英), DENG X P(邓西平), SHAN L(山 仑). Effects of progressive drying and rewetting on physiological and biochemical indicators in maize seedlings[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*(中国生态农业学报), 2004, **12**(3): 59—61(in Chinese).
- [23] HONG Z, LAKKINENI K, ZHANG Z. Removal of feedback inhibition of delta(1)-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress[J]. *Plant Physiology*, 2000, **122**(4): 1 129—1 136.
- [24] CHOUDHARY N L, SAIRAM R K, TYAGI A. Expression of D¹-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene during drought in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 2005, **42**(6): 366—370.
- [25] ROOSENS N H C J, THU T T, ISKANDAR H M, *et al.* Isolation of the ornithine- δ -aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Physiology*, 1998, **117**(1): 263—271.
- [26] YOSHIBA Y, KIYOSUE T, NAKASHIMA K, *et al.* Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1997, **38**(10): 1 095—1 102.
- [27] JAARSMA R, DE VRIES R S M, DE BOER A H. Effect of salt stress on growth, Na⁺ accumulation and proline metabolism in potato (*Solanum tuberosum*) cultivars[J]. *PloS One*, 2013, **8**(3): e60183.
- [28] SCHWACKE R, GRALLATH S, BREITKREUZ K E, *et al.* LeProT1, a transporter for proline, glycine betaine, and γ -amino butyric acid in tomato pollen[J]. *The Plant Cell*, 1999, **11**(3): 377—391.
- [29] LEHMANN S, FUNCK D, SZABADOS L, *et al.* Proline metabolism and transport in plant development[J]. *Amino Acids*, 2010, **39**(4): 949—962.
- [30] UEDA A, SHI W, SANMIYA K, *et al.* Functional analysis of salt-inducible proline transporter of barley roots[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2001, **42**(11): 1 282—1 289.
- [31] SHEN Y G, ZHANG W K, YAN D Q, *et al.* Overexpression of proline transporter gene isolated from halophyte confers salt tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2002, **44**(8): 956—962.