#### DOI: 10.5846/stxb202011253021

罗巧玉,陈志,马永贵,王彦龙,拉毛叶,马玉寿.水分胁迫下发草(Deschampsia caespitosa)叶片脯氨酸及其代谢产物变化.生态学报,2022,42(9): 3546-3556.

Luo Q Y, Chen Z, Ma Y G, Wang Y L, La M Y, Ma Y S. Analyses of proline accumulation and metabolism in the leaves of Deschampsia caespitosa under drought and waterlogging stress. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(9):3546-3556.

# 水分胁迫下发草(Deschampsia caespitosa)叶片脯氨酸 及其代谢产物变化

# 罗巧玉<sup>1,2</sup>,陈 志<sup>1</sup>,马永贵<sup>1</sup>,王彦龙<sup>2</sup>,拉毛叶<sup>1</sup>,马玉寿<sup>2,\*</sup>

1 青海师范大学生命科学学院,高原科学与可持续发展研究院,青海省青藏高原药用动植物资源重点实验室,西宁 810008 2 青海大学农牧学院,西宁 810008

摘要:以发草(Deschampsia caespitosa)为供试材料,通过盆栽模拟水分胁迫,研究重度干旱、中度干旱、轻度干旱、植物正常需水 量(对照)、轻度水涝、中度水涝、重度水涝处理下发草叶片脯氨酸(Pro)积累状况及其代谢途径中底物、中间产物和关键酶的动 态变化,以期从脯氨酸代谢途径对发草抗旱/涝机理进行初步探讨。结果显示,干旱和水涝胁迫前期发草叶片 Pro 含量显著升 高,谷氨酸(Glu)和鸟氨酸(Om)含量显著下降,Δ<sup>1</sup>-吡咯琳-5-羧酸合成酶(P5CS)活性、鸟氨酸转氨酶(δ-OAT)活性、Δ<sup>1</sup>-吡咯琳-5-羧酸还原酶(P5CR)活性均显著增强,而脯氨酸脱氢酶(ProDH)活性显著降低,表明干旱和水涝胁迫前期发草叶片通过脯氨 酸合成代谢的加强和分解代谢的抑制共同积累脯氨酸,以缓解干旱和水涝胁迫产生的危害,Glu 途径和 Om 途径协同作用于叶 片脯氨酸合成代谢过程。中度、轻度干旱和轻度水涝处理 21 d 后 Pro 含量趋于稳定,持续 21 d 的重度干旱处理和持续 28 d 的 重度水涝处理时发草死亡,共同显示了发草对水涝和干旱具有较强的耐受性。结论为高寒沼泽湿地旱涝"共耐性"植物的研究 提供理论基础,同时为利用发草开展退化高寒沼泽湿地植被恢复提供科学依据。

关键词:发草;水分胁迫;脯氨酸;代谢途径

# Analyses of proline accumulation and metabolism in the leaves of *Deschampsia* caespitosa under drought and waterlogging stress

LUO Qiaoyu<sup>1, 2</sup>, CHEN Zhi<sup>1</sup>, MA Yonggui<sup>1</sup>, WANG Yanlong<sup>2</sup>, LA Maoye<sup>1</sup>, MA Yushou<sup>2, \*</sup>

1 Qinghai Provincal Key Laboratory of Medicinal Plant and Animal Resources of Qinghai-Tibet Plateau, Academy of Plateau Science and Sustainability, School of Life Sciences, Qinghai Normal University, Xining 810008, China

2 College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810008, China

Abstract: Deschampsia caespitosa has the characteristics of cold resistance and pruning resistance. They can grow not only in arid environments such as grassland, but also in wet habitats such as river beach and swamp. D. caespitosa has high seed yield and high germination rate. It is one of the ideal species for vegetation restoration in the alpine marshes. Water is one of the important abiotic factors limiting many aspects of plant growth and development, including survival, metabolism, and geographical distributions. Water deficit is the most common stress factor during growth and development. Plants have evolved an effective antioxidant system to remove excess reactive oxygen species to protect them from damage. Proline (Pro), a widely distributed osmotic regulator, plays an important role in preventing plants from damage under water stress. In order to study the physiological mechanism of D. caespitosa growth under drought and flood stress, we examined Pro

基金项目:第二次青藏高原综合科学考察研究项目(SQ2019QZKK2206);国家重点研发计划项目(2016YFC0501903);青海省科技厅项目(2020-ZJ-Y40);校级中青年科研基金项目(KJQN2021003)

收稿日期:2020-11-25; 网络出版日期:2022-01-07

\* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: mayushou@ sina.com

accumulation and metabolism in the leaves of *D. caespitosa* to understand how this herbage plant tolerates drought and waterlogging stress in the alpine marshes. We analyzed Pro accumulation and changes of the substrate, intermediate products and enzyme activities in the Pro metabolism under drought and waterlogging stress. We found that the Pro content was increased in the leaves of *D. caespitosa* under drought stress and waterlogging stress. Pro levels were increased over the period of treatment but were leveled off or decreased after treatment for 21 days. Glutamate (Glu) and ornithine (Orn) levels were decreased in the leaves of *D. caespitosa* under drought stress and waterlogging stress, while Glu was changed more obviously. Glu and Orn were involved in Pro metabolism that leading to Pro production. The levels of glutamic- $\gamma$ semialdehyde(GSA) and  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate(P5C), intermediates of the Pro metabolism, changed under water stress. The activities of  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylic acid synthetase (P5CS), ornithine aminotransferase ( $\delta$ -OAT), and  $\Delta^1$ pyrroline-5-carboxylic acid reductase (P5CR) were increased, while the activity of proline dehydrogenase (ProDH) was reduced. Osmotic stress was alleviated in the leaves of *D. caespitosa* by increasing Pro content. Pro increase was caused by the active Pro accumulation and the interaction of the Glu pathway and Orn pathway. Pro accumulation was enhanced by Pro anabolism and inhibited by Pro catabolism. *D. caespitosa* was died after the severe drought treatment for 21 days and severe waterlogging treatment for 28 days. Our results are helpful for future in-depth study of plant co-tolerance to drought and flood stress in alpine marshes as well as for the restoration of the degraded alpine marshes with herbage plants.

#### Key Words: Deschampsia caespitosa; water stress; proline; metabolism

水分是限制植物生长重要的非生物因子之一,影响植物的生存、生理代谢、生长发育乃至地理分布[1-2]。 同时,水分胁迫是植物生长发育过程中经历的最常见、最普遍的胁迫因子[3-4]。干旱、淹水、高温、冰冻或盐渍 等都能引起水分胁迫<sup>[5-8]</sup>。水分胁迫对植物的影响主要体现在细胞活性、组织和器官功能上<sup>[9]</sup>。水分胁迫下 植物体内积累大量活性氧,水分代谢平衡被打破,细胞原生质脱水、水势下降,导致植物在形态和功能上发生 重大变化[10]。为保护自身免受伤害,植物进化出有效的抗氧化系统以清除过多的活性氧[11-12]。其中脯氨酸 (proline, Pro)作为一类分布广泛的重要渗透调节物质,在防止水分胁迫对植物造成伤害中起重要作用<sup>[13]</sup>。 Pro 的生物合成途径有2条,包括以谷氨酸(glutamate,Glu)为底物的Glu途径和以鸟氨酸(ornithine,Orn)为底 物的 Orn 途径<sup>[12]</sup>。Glu 途径中 Glu 生成谷氨酸半醛(glutamic-γ-semialdehyde,GSA)是可逆反应,Δ<sup>1</sup>-吡咯琳-5-羧酸合成酶( $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase, P5CS)是限速酶、 $\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸脱氢酶( $\Delta^1$ -pyrroline-5carboxylate dehydrogenase, P5CDH) 是逆反应的催化酶<sup>[7]</sup>。Orn 途径中鸟氨酸转氨酶(ornithine aminotransferase, δ-OAT) 是关键酶<sup>[14]</sup>。GSA 和 Δ<sup>1</sup>-吡咯琳-5-羧酸(Δ<sup>1</sup>-pyrroline-5-carboxylate, P5C) 是 Pro 代谢 途径的中间产物,可以自发地相互转化。Pro 降解过程是合成过程的逆过程, Δ¹-吡咯琳-5-羧酸还原酶(Δ¹pyrroline-5-carboxylate reductase,P5CR)是催化酶、脯氨酸脱氢酶(proline dehydrogenase,ProDH)是限速酶<sup>[7]</sup>。 目前,关于 Pro 对干旱<sup>[5,15]</sup>、水涝<sup>[6,16]</sup>、盐<sup>[15,17]</sup>、冻融<sup>[12,18]</sup>等胁迫中的响应规律已有较多报道,但不同植物对干 旱和水涝胁迫的耐受、抵御机制不尽相同<sup>[12-13,16]</sup>,而且有关从干旱到水涝的梯度水分胁迫下 Pro 积累以及 Pro 合成途径中酶活性、底物及中间产物动态变化等的研究较少。

发草(Deschampsia caespitosa)别名无芒发草、小穗发草,是禾本科(Gramineae)发草属(Deschampsia)多年 生草本植物,具有耐寒、耐旱、耐水淹、耐盐碱、耐重金属等优良特性<sup>[19-21]</sup>。发草适口性好、营养物质含量高, 是值得大力推广的优良牧草<sup>[22]</sup>。同时,发草茎叶柔软、耐修剪,是良好的地被草坪植物<sup>[23]</sup>。研究表明,发草 适生范围广,不仅能够生长于草原等旱生环境,而且能够生长于河滩、沼泽等湿生生境<sup>[24-26]</sup>。沼泽湿地及边 缘过渡带具有周期性淹水和出露交替的特征,水分条件经常发生极端干旱或淹水的变化<sup>[27]</sup>,发草在长期进化 中已适应极端干旱或淹水交替变化的特殊土壤水分条件。目前关于发草的研究仅见于其作为藏嵩草 (Kobresia schoenoides)、青藏苔草(Carex moorcroftii)群落的伴生种的调查、发草的分布与起源以及形态学特 征<sup>[24-26]</sup>,水分胁迫下发草抗逆性特征的研究尚少。因此,研究干旱、水涝两种截然相反的水分逆境下发草 Pro 生理应答机制,对该物种抗旱/涝育种、植被修复选种和资源利用等具有重要意义。

本研究以发草为供试植物,利用盆栽模拟水分胁迫试验方法,研究从干旱到水涝的梯度水分胁迫下发草 Pro 积累状况及其代谢途径中底物和关键酶的动态变化规律,分析发草 Pro 代谢对干旱和水涝胁迫的响应特 点,为进一步研究发草及发草属植物的耐受/抵御水分胁迫机制奠定基础,也为高寒沼泽湿地旱涝"共耐性" 植物的深入研究及利用发草开展退化高寒沼泽湿地植被恢复提供理论基础。

### 1 材料与方法

### 1.1 栽培基质

土壤基质为河沙和壤土的混合物,壤土取自青海省果洛藏族自治州玛沁县大武镇高寒草甸,沙和土以1:1 (体积分数)混合均匀。其理化性质为:全氮 0.31%、全磷 0.26 mg/g、全钾 19.58 mg/g、有机质 1.45%、pH 7.63 (水土比为 1:1)、电导率 225.52 μS/cm(水土比为 5:1)。

#### 1.2 供试植物

供试植物发草种子由青海大学畜牧兽医科学院草原研究所提供,是经过多年野生栽培驯化的新品系。挑选饱满一致、无病害种子,用 2% NaClO<sub>3</sub>浸泡消毒 5—10 min,用蒸馏水漂洗 3—5 次后备用。

1.3 实验设计

本研究于青海师范大学城北校区(36.742°N,101.749°E)进行。该试验点海拔 2390.6 m,夏季平均气温 16.4 ℃。2018 年 9 月将发草种子直接播种于装有 3 kg 供试土壤的底部带孔盆钵(直径 20 mm,高 25 mm)内, 3—5 d 出苗,待幼苗稳定后进行定苗,每盆定苗 10 株。期间对幼苗进行正常水分管理。冬季将植物转移至温室内过冬,2019 年 4 月中下旬天气转暖时将植物转移至室外露天培养。7 月 25 日发草植株长至 25 cm 时进行水分胁迫处理,具体水分处理<sup>[28—29]</sup>如表 1 所示。采用完全随机设计,每个处理设 10 个重复。干旱处理及植物正常需水量处理的盆钵底放置盆托,水涝处理的盆钵底放置水桶以免水分流出。田间持水量采用环刀法测定<sup>[30]</sup>,用环刀采集具代表性原状盆土进行土样吸水使土壤水分达到饱和,排除重力水后烘干称重。水分处理过程中,原地搭建遮雨棚,雨棚两侧通风,不影响温度和湿度。遮雨棚内放置便携式气象仪(霍尔德 HED-SQ,中国),监测实时气象数据。水分处理期间大气温度和湿度状况如图 1 所示。用土壤水分传感器(ProCheck,USA)监测土壤含水量进行水分控制<sup>[28—31]</sup>,每两天补充损失水分以控制土壤水分达到处理条件,并设置 1 个无植物盆土作为对照,估计土壤表面蒸发水分量。水分处理期间各处理的土壤含水量如图 2 所示。每次浇水时间为 18:00—19:00。浇水过程中观察并记录植株性状变化。水分胁迫处理共持续 28 d,分别在试验处理前及处理后 7、14、21、28 d 取植物叶片。用蒸馏水漂洗后拭干表面水分,装入冻存管经液氮速冻,置于~80 ℃冰箱保存备用。

Table 1	Treatment design of D. caespitosa about water stress
处理设计 Treatment design	解释 Explanation
重度水涝胁迫 Heavy waterlogging stress(HW)	植株顶部被淹没在水下
中度水涝胁迫 Medium waterlogging stress(MW)	仅植株根颈部被淹,即积水厚度 3 cm 左右
轻度水涝胁迫 Light waterlogging stress(LW)	田间持水量的 100%
植物正常需水量 Control check(CK)	田间持水量的 70%—80%
轻度干旱胁迫 Light dry stress(LD)	田间持水量的 50%—60%
中度干旱胁迫 Medium dry stress(MD)	田间持水量的 30%—40%
重度干旱胁迫 Heavy dry stress(HD)	田间持水量的 20%

表1 发草水分胁迫处理设计

#### 1.4 测定指标与方法

Pro 含量测定采用酸性茚三酮显色法<sup>[32]</sup>, 酶液提取参照 Lutts 等方法<sup>[33]</sup>。Glu、Orn、GSA、P5C 含量及



Fig.1 Atmospheric temperature and humidity conditions during water treatments

P5CDH、P5CR 活性测定采用上海江莱生物科技有限公司生产的酶联免疫分析试剂盒。P5CS 活性测定采用 Garciá-Ríos 等<sup>[34]</sup>方法:100 mmol/L Tris-HCl(pH 7.2)缓冲液(包含 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、75 mmol/L Glu、5 mmol/ L ATP、0.4 mmol/L NADPH)中加入粗酶液启动反应,340 nm 下测定吸光值的减少量。 $\delta$ -OAT 活性测定采用 Charest 等<sup>[35]</sup>的方法:在 0.2 mol/L Tris-KOH(pH 8.0)缓冲液(包含 5 mmol/L Orn、10 mmol/L  $\alpha$ -酮戊二酸、0.25 mmol/L NADH)加入粗酶液启动反应,340 nm 下测定吸光值的减少量。ProDH 活性测定采用 Lutts 等<sup>[33]</sup>方 法:0.15 mol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-HCl(pH 10.3)缓冲液(包含 15 mmol/L L-脯氨酸、1.5 mmol/L NAD<sup>+</sup>)中加入粗酶液启 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。

## 1.5 数据分析

采用 SPSS 22 软件对试验数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA),采用 LSD 法在显著水平为 5%条件下进行比较,当 P<0.05 时,差异显著。数据结果均用"平均值±标准误"表示,并用利用 Origin 2017 软件作图。

## 2 结果与分析

## 2.1 水分胁迫下发草生长以及叶片 Pro 含量的变化

水分胁迫下发草的生长受到抑制,随着水分胁迫时间增长,植物受到的抑制效果越明显。干旱胁迫下发 草叶片由鲜绿色变成墨绿泛白状态,随着干旱胁迫时间增长,叶片不断萎蔫,直至 21 d 后重度干旱处理下发 草死亡。水涝胁迫下发草叶片颜色变化不明显,但是随着水涝胁迫时间增长,叶片及枯落物腐烂发臭,28 d 后重度水涝处理下发草地上部分全部腐烂。

根据不同处理对发草 Pro 含量的方差分析结果(表 2)可知,水分处理、处理时间及水分处理和处理时间 的互作对发草 Pro 含量的影响极显著(P<0.01)。由图 3 发现,未进行水分处理前,所有植物 Pro 含量均无显 著性差异。水分处理下发草 Pro 含量均显著高于对照。随着处理时间增长,Pro 含量呈现增加趋势。其中中 度干旱处理下 Pro 含量最大,达到 142.10 μg/g 鲜重。除了重度水涝和重度干旱处理下发草 Pro 含量一直升



图 2 水分处理期间不同水分处理下土壤含水量状况

Fig.2 Soil water content under different water treatments

HW:重度水涝胁迫 Heavy waterlogging stress; MW:中度水涝胁迫 Medium waterlogging stress; LW:轻度水涝胁迫 light waterlogging stress; CK:对照 Control check; LD:轻度干旱胁迫 Light dry stress; MD:中度干旱胁迫 Medium dry stress; HD:重度干旱胁迫 Heavy dry stress

高外,其他水分处理 21 d 前后 Pro 含量逐渐下降或者 趋于稳定不再继续升高。上述结果表明,干旱到水涝的 梯度水分胁迫下发草 Pro 含量均显著增加,从而参与渗 透调节来抵制逆境。随着处理时间增长,Pro 含量增 加,但除了重度干旱和重度水涝胁迫外,其他水分胁迫 处理 21 d 前后 Pro 含量趋于稳定。

2.2 水分胁迫下发草叶片 Pro 代谢底物和中间产物含量的变化

植物 Pro 代谢途径包括 Glu 途径和 Orn 途径, Glu 和 Orn 分别是这两种代谢途径中的底物。根据不同处 理对发草 Pro 代谢途径中底物、中间产物含量的方差分 析结果(表 2)可知,水分处理及水分处理和处理时间的 互作对发草 Glu 和 Orn 含量的具有极显著影响(P< 0.01);处理时间对发草 Glu 含量也具有极显著影响 (P<0.01)。从不同水分处理下发草 Pro 代谢底物 Glu 和 Orn 含量的动态变化(表 3)发现,未进行水分处理



图 3 不同水分处理下发草叶片脯氨酸含量的动态变化 Fig.3 Dynamic changes of proline content in *D. caespitosa* leaves under different water treatments

前,所有植物间 Glu 和 Orn 含量均无显著性差异。重度干旱和水涝处理在 7 d 时 Glu 含量显著下降(P< 0.05),其中重度干旱处理下 Glu 含量为 9.56 μg/g 鲜重。轻度干旱处理下 Glu 含量无显著变化,直到 21 d 时 迅速降低。随着处理时间增长, Glu 含量上升, 28 d 时趋于稳定。其中轻度水涝处理下 Glu 含量最高为 20.43 μg/g鲜重。28 d 时重度水涝、中度水涝和轻度干旱处理下发草 Glu 含量显著低于对照(P<0.05)。重度 干旱处理 7 d Orn 含量显著降低(P<0.05)。中度和轻度水分处理下 Orn 含量有升高趋势。水涝处理后 Orn 含量无变化,14 d 后发草 Orn 含量显著降低(P<0.05)。综上所述,干旱到水涝的梯度水分胁迫下发草 Glu 和 Orn 含量均显著减少, Glu 和 Orn 共同参与 Pro 代谢途径以生成更多 Pro。

表 2 不同处理对发草叶片脯氨酸及其代谢途径中底物、中间产物含量的方差分析结果

 Table 2
 Results of ANOVA for the effects of water treatment and treatment time on the content of proline and its substrates and intermediates

 of the metabolic pathway in *D. caespitosa* leaves

变量来源 Source of variation	df	脯氨酸 Proline		谷氨酸 Glutamate		鸟氨酸 Ornithine		谷氨酸半醛 Glutamine hemialdehyde		$\Delta^1$ -吡咯啉-5-羧酸 $\Delta^1$ -pyrroline-5- carboxylate	
		F	Р	F	Р	F	Р	F	P	F	P
水分处理 Water treatment	6	29.611	0.000	22.011	0.000	11.913	0.000	4.17	0.001	7.997	0.000
处理时间 Treatment time	4	61.976	0.000	15.524	0.000	2.138	0.086	6.866	0.000	13.132	0.000
水分处理×处理时间 Water treatment×Treatment time	23	3.983	0.000	10.939	0.000	5.931	0.000	5.665	0.000	4.885	0.000

表 3 不同水分处理下发草叶片脯氨酸代谢底物谷氨酸和鸟氨酸含量的动态变化

Table 3 Dynamic changes of glutamate and ornithine content in D. caespitosa leaves under different water treatments

指标 Indicators	处理时间 Treatment time/d	HW	MW	LW	СК	LD	MD	HD
谷氨酸	0	17.78±0.60Aa	15.27±0.41Aa	15.62±3.09Ab	17.02±0.60Aa	19.45±1.14Aa	$16.50{\pm}0.54{\rm Ab}$	18.78±0.50Aa
Glutamate/(μg/g 鲜重)	7	16.04±0.65Bab	$12.44 \pm 0.37 \text{Cb}$	9.37±0.11Dd	16.20±0.06Ba	20.27±0.79Aa	$15.28{\pm}0.76{\rm Bb}$	$9.56{\pm}0.17{\rm Dc}$
	14	$15.18{\pm}0.53{\rm Bb}$	12.54±0.40Ba	9.81±0.09Ccd	16.45±1.48Ba	18.68±0.17Aa	$15.18{\pm}0.45{\rm Bb}$	$9.05 \pm 0.17 \mathrm{Cc}$
	21	16.39±0.59Bab	14.62±0.56Ba	$14.58{\pm}1.39{\rm Bbc}$	16.70±1.24Ba	$16.32 \pm 0.49 Bb$	20.11±0.51Aa	$11.07{\pm}0.12{\rm Cb}$
	28	11.44±0.61Cc	$15.64 \pm 0.12 \text{Cb}$	20.43±0.24Aa	16.64±1.46Ba	$12.08\pm0.41$ Cc	$16.46 \pm 1.13 \mathrm{Bb}$	_
鸟氨酸	0	3.13±0.45Aa	$2.82{\pm}0.26{\rm Ab}$	$2.98{\pm}0.35{\rm Ab}$	3.96±0.59Aa	2.99±0.41Aab	2.95±0.31Acd	3.73±0.22Aa
Ornithine/(μg/g 鲜重)	7	2.92±0.16ABa	3.52±0.20ABa	$2.69{\pm}0.09{\rm Bbc}$	4.04±1.00Aa	$2.56{\pm}0.05{\rm Bb}$	$3.80 \pm 0.15 \mathrm{ABb}$	$2.71{\pm}0.13\mathrm{Bb}$
	14	3.34±0.05Ca	$2.89{\pm}0.03{\rm Cb}$	1.98±0.21Dc	4.42±0.13Ba	2.88±0.19Cab	6.59±0.37Aa	$1.47 \pm 0.15 \mathrm{Dc}$
	21	$3.52 \pm 0.27 \text{Cb}$	2.08±0.22Cc	4.10±0.21Ba	5.40±0.91Aa	3.09±0.33BCab	2.34±0.39Cd	$3.00 \pm 0.19 BCb$
	28	1.95±0.07Aa	3.61±0.15Aa	3.78±0.31Aa	4.37±1.09Aa	3.73±0.23Aa	$3.65 \pm 0.09 \mathrm{Abc}$	_

同列不同小写字母表示同一水分处理下不同处理天数间差异性显著(P<0.05),同行不同大写字母表示同一处理天数下不同水分处理间差异性显著(P<0.05);一:植株死亡

GSA 和 P5C 是植物 Pro 合成途径中的中间代谢产物。根据不同处理对发草 Pro 及其代谢途径中底物、中间产物含量的方差分析结果(表 2)可知,水分处理、处理时间及水分处理和处理时间的互作均对发草 GSA 和 P5C 含量具有极显著影响(P<0.01)。从不同水分处理下发草 Pro 代谢中间产物 GSA 和 P5C 含量的动态变化 (表 4)发现,未进行水分处理前,发草叶片的 GSA 和 P5C 含量均无显著性差异。水分处理后发草 GSA 和 P5C 的含量随着处理时间增加,但未呈现明显规律。重度水涝、轻度水涝、轻度干旱、中度干旱、重度干旱处理下发 草 GSA 含量显著升高(P<0.05)。干旱到水涝的梯度水分胁迫下发草 P5C 与 GSA 含量变化趋势基本一致。

2.3 水分胁迫下发草叶片 Pro 代谢关键酶活性的变化

P5CS、P5CDH、δ-OAT、P5CR 和 ProDH 是植物 Pro 合成途径中的关键酶。根据不同处理对发草 Pro 代谢 关键酶活性的方差分析结果(表 5)可知,水分处理及水分处理和处理时间的互作均对发草叶片中影响 Pro 代 谢的关键酶 P5CS、P5CDH、δ-OAT、P5CR 和 ProDH 的活性具有极显著影响(P<0.01),处理时间对发草叶片 δ-OAT 的活性也具有极显著影响(P<0.01)。

#### 表 4 不同水分处理下发草叶片脯氨酸代谢中间产物谷氨酸半醛和 $\Delta^1$ -吡咯啉-5-羧酸含量的动态变化

Table 4 Dynamic changes of Glutamine hemialdehyde and  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate content in *D. caespitosa* leaves under different water treatments

指标 Indicators	处理时间 Treatment time/d	HW	MW	LW	СК	LD	MD	HD
谷氨酸半醛	0	$1.24\pm0.14\mathrm{Ab}$	$1.52{\pm}0.02{\rm Ab}$	$1.28{\pm}0.17{\rm Ac}$	1.54±0.24Aa	1.46±0.06Aa	$1.68{\pm}0.03{\rm Ab}$	1.38±0.27Ab
Glutamine hemialdehyde/	7	1.71±0.09BCb	1.64±0.06BCab	2.28±0.21Aab	1.33±0.06Ca	1.78±0.22BCa	$1.94{\pm}0.09{\rm ABb}$	2.41±0.22Aa
(µg/g 鲜重)	14	$1.66{\pm}0.12\mathrm{Bb}$	1.61±0.02BCab	$1.27 \pm 0.11$ Cc	1.51±0.05BCa	1.72±0.14Ba	2.73±0.14Aa	1.38±0.16BCb
	21	1.17±0.16Cb	$1.30\pm0.10$ Cc	2.47±0.17Aa	1.39±0.15BCa	1.64±0.12BCa	$1.37 \pm 0.08 \text{BCc}$	2.00±0.43ABab
	28	3.05±0.65Aa	1.75±0.02Ba	$1.80{\pm}0.15\rm{Bbc}$	1.23±0.08Ba	1.79±0.11Ba	$1.73{\pm}0.10{\rm Bb}$	—
ΔC1-吡咯啉-5-羧酸	0	4.13±0.13Aab	$3.30{\pm}0.21\mathrm{Ab}$	$3.33{\pm}0.32{ m Ab}$	3.98±0.47Aa	$3.74{\pm}0.18{\rm Ac}$	$4.19{\pm}0.40{\rm Ab}$	4.11±0.09Aab
$\Delta^1$ -pyrroline-5-	7	3.31±0.21BCb	$4.38{\pm}0.37{\rm Bab}$	$3.63 \pm 0.21 \text{BCb}$	3.37±0.27BCa	3.38±0.09BCc	$5.54 \pm 0.75 \mathrm{Aab}$	$3.02 \pm 0.13$ Cc
carboxylate/	14	$3.97{\pm}0.23\mathrm{Bb}$	$3.38{\pm}0.38{\rm Bb}$	$3.56{\pm}0.22\mathrm{Bb}$	4.08±0.63Ba	5.79±0.48Aab	6.83±0.35Aa	$3.56{\pm}0.32{\rm Bbc}$
(µg/g 鲜重)	21	$3.64{\pm}0.26{\rm Bb}$	3.72±0.61Bab	6.50±0.70Aa	4.23±0.51Ba	$4.47{\pm}0.44\mathrm{Bbc}$	$4.23{\pm}0.50{\rm Bb}$	4.66±0.20Ba
	28	5.00±0.46ABa	5.30±0.75Aa	6.48±0.67Aa	3.20±0.27Ba	6.83±0.80Aa	5.45±0.39Aab	—

同列不同小写字母表示同一水分处理下不同处理天数间差异性显著(P<0.05),同行不同大写字母表示同一处理天数下不同水分处理间差异性显著(P<0.05);--:植株死亡

P5CS 是 Glu 途径中的限速酶, Glu 在 P5CS 的催化作用下生成 GSA,进而生成 Pro。从不同水分处理下发 草 Pro 代谢关键酶活性的动态变化(表 6)表明,水分处理后 P5CS 活性呈现增强趋势。重度水涝和中度水涝 处理下不同处理时间 P5CS 的活性无显著变化。轻度水涝处理下 P5CS 的活性于 28 d 时最强。轻度干旱处 理 P5CS 的活性呈先增强后降低趋势。处理 14 d,重度干旱处理 P5CS 的活性量著增强为 9.49 U/g 鲜重。处 理 21 d 时降低到 7.93 U/g 鲜重。Glu 途径中 Glu 生成 GSA 是可逆反应,P5CDH 是逆反应的催化酶。水分处 理后 P5CDH 活性下降,变化趋势与 P5CS 活性的变化相反。δ-OAT 是 Om 途径中的关键酶,可将 Om 转化为 GSA,进而合成 Pro。除重度水涝外,水分处理后 δ-OAT 活性均呈增强趋势。不同水分处理下 δ-OAT 活性增 强的时间不一致,处理 7 d 时,轻度水涝处理和重度干旱处理下发草叶片 δ-OAT 的活性显著增强(P<0.05); 处理 14 d 时,轻度干旱处理和中度干旱处理下发草叶片 δ-OAT 的活性显著增强(P<0.05)。P5CR 是 Pro 生 物合成通路中的关键酶,将 P5C 还原成 Pro。水分处理前期 P5CR 的活性无显著变化,但随着处理时间增加, 轻度干旱、重度干旱、轻度水涝和重度水涝处理下活性增强显著。ProDH 是 Pro 降解反应的限速酶,将 Pro 降 解为 P5C。随着水分处理时间增加,发草 ProDH 活性显著下降。21 d 时水分胁迫下发草 ProDH 活性显著低 于对照植物,尤其在轻度水涝和重度水涝处理下 ProDH 活性降低显著。

Table 5 Results of ANOVA	for the effective for the effe	ffects of wa	ter treatm	ent and tro	eatment ti	me on the	key enzyn	es activity	of Pro in	D. caespito	sa leaves
亦量来源	df	Δ <sup>1</sup> -吡咯琳-5- 羧酸合成酶 Δ <sup>1</sup> -pyrroline-5- carboxylate synthetase		Δ <sup>1</sup> -吡咯琳-5- 羧酸脱氢酶 Δ <sup>1</sup> -pyrroline-5- carboxylate dehydrogenase		鸟氨酸转氨酶 Omithine aminotransferase		Δ <sup>1</sup> -吡咯琳-5- 羧酸还原酶 Δ <sup>1</sup> -pyrroline-5- carboxylate reductase		$\Delta^1$ -吡咯琳-5- 炭酸合成酶 $\Delta^1$ -pyrroline-5- carboxylate synthetase	
Source of variation											
		F	Р	F	Р	F	Р	F	Р	F	Р
水分处理 Water treatment	6	3.476	0.005	12.02	0.000	33.168	0.000	14.205	0.000	4.93	0.000
处理时间 Treatment time	4	2.228	0.075	1.075	0.376	13.726	0.000	2.466	0.053	1.753	0.149
水分处理×处理时间 Water treatment×Treatment time	23	2.731	0.001	4.824	0.000	3.101	0.000	3.299	0.000	3.271	0.000

表 5 不同处理对发草叶片 Pro 代谢关键酶活性的方差分析结果

指标 Indicators	处理时间 Treatment time/d	HW	MW	LW	CK	LD	MD	HD
$\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶	0	10.00±1.37Aa	10.81±1.26Aa	8.70±0.19Ac	8.33±0.41Aa	9.39±0.44Ac	10.68±1.18Aab	8.67±0.49Aab
$\Delta^1$ -pyrroline-5-	7	12.56±2.11Aa	9.64±0.52Ba	8.23±0.29Bc	9.22±0.32Ba	12.97±0.31Aa	$9.39{\pm}0.88\mathrm{Bb}$	8.55±0.24Bab
carboxylate synthetase/	14	10.71±0.72ABa	10.94±1.43ABa	6.49±0.14Dd	8.38±0.24CDa	11.72±0.07Ab	7.61±0.21CDb	9.49±0.38BCa
(U/g 鲜重)	21	7.53±2.49Ca	15.33±3.24ABa	10.99±0.43ABCb	9.36±0.28BCa	11.19±0.24ABCb	16.54±3.31Aa	7.93±0.10Cb
	28	8.57±2.49Aa	10.74±2.36Aa	13.51±0.32Aa	8.95±0.41Aa	$7.95{\pm}0.28{\rm Ad}$	13.39±2.82Aab	-
$\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸脱氢酶	0	8.17±0.52Aa	7.21±0.26Aa	8.11±0.13Abc	7.08±0.16Aa	8.18±0.25Aab	7.59±0.14Aa	6.94±0.70Ab
$\Delta^1$ -pyrroline-5-	7	$7.05 \pm 0.45 Bb$	$5.26{\pm}0.39{\rm Bd}$	7.65±0.11ABbc	7.66±0.89ABa	10.06±1.62Aa	$6.81{\pm}0.08\mathrm{Bb}$	9.63±0.52Aab
carboxylate dehydrogenase/	14	6.05±0.21CDbc	6.22±0.19CDbc	$5.19 \pm 0.13 \mathrm{Dc}$	7.33±0.94BCa	8.26±0.20Bab	5.54±0.33Dc	11.29±0.62Aa
(U/g 鲜重)	21	$6.24 \pm 0.06 Bb$	7.05±0.06Bab	11.11±0.68Aab	6.99±1.11Ba	7.12±0.27Bbc	$6.83{\pm}0.16{\rm Bb}$	10.24±2.18Aab
	28	5.11±0.07Bc	5.72±0.31Bcd	12.70±2.37Aa	7.32±0.94Ba	5.63±0.20Bc	7.07±0.21Bab	-
鸟氨酸转氨酶	0	19.11±1.77Aa	$20.47{\pm}0.61{\rm Ab}$	21.13±1.16Ab	18.11±1.07Aa	18.86±1.74Ab	22.60±1.55Ab	21.45±2.27Ac
Ornithine aminotransferase/	7	18.42±2.39Ca	21.52±1.22BCb	39.12±0.77Aa	19.49±0.33Ca	18.64±1.34Cb	$23.78{\pm}0.65{\rm Bb}$	38.41±0.42Ab
(U/g 鲜重)(U/g 鲜重)	14	18.51±1.59Da	24.88±1.10CDab	37.72±0.30Aa	22.90±5.51CDa	26.54±3.58CDa	27.90±1.81BCa	35.16±0.78ABb
	21	20.67±0.91Ca	23.69±1.07Cab	35.04±7.95ABa	21.42±0.68Ca	25.30±2.26BCab	25.22±0.42BCab	43.06±0.21Aa
	28	18.80±1.82Ca	27.56±2.47ABa	32.41±1.41Aab	22.48±2.35BCa	28.10±0.87ABa	21.40±0.77Cb	-
$\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸还原酶	0	12.74±1.44Aa	$10.84 \pm 0.31 \mathrm{Ab}$	8.43±1.46Ab	10.74±1.19Aa	12.60±2.26Aab	12.03±2.03Aa	9.07±1.14Ab
$\Delta^1$ -pyrroline-5-	7	10.82±0.24Cab	$10.45 \pm 0.48 \text{Cb}$	9.05±0.70CDb	12.79±0.72Ba	16.16±0.74Aa	13.68±0.61Ba	$7.36 \pm 0.32 \text{Db}$
carboxylate reductase/	14	11.58±0.06BCa	12.86±0.60Ba	8.34±0.57CDb	12.96±0.58Ba	15.91±1.05ABa	18.26±3.41Aa	7.07±0.20Db
(U/g 鲜重)	21	12.07±0.10BCa	12.87±0.40ABCa	8.98±0.24Db	13.14±0.69ABCa	13.99±1.06ABab	14.16±0.54Aa	11.94±0.59Ca
	28	9.07±0.22Cb	11.14±0.53BCb	15.30±0.22Aa	10.86±0.24BCa	10.80±0.98BCb	14.07±2.77ABa	-
脯氨酸脱氢酶	0	1.62±0.22Aab	1.54±0.20Aa	$1.54 \pm 0.06 \mathrm{Ab}$	1.62±0.26Aa	1.59±0.04Aab	1.27±0.04Abc	1.35±0.27Abc
Proline dehydrogenase/	7	1.71±0.10Aa	1.43±0.13ABCa	1.20±0.03Cc	1.70±0.28Aa	1.27±0.04BCb	1.19±0.05Cc	1.64±0.04ABab
(U/g 鲜重)	14	1.26±0.08Dbc	1.47±0.03Ca	1.75±0.09Ba	1.24±0.03Da	2.03±0.07Aab	1.22±0.05Dbc	2.07±0.08Aa
	21	0.99±0.02Cc	1.47±0.03ABa	1.21±0.03BCc	1.73±0.26Aa	1.69±0.13Aab	1.44±0.12ABab	1.13±0.01BCc
	28	1.09±0.02Bc	1.32±0.09Ba	1.26±0.06Bc	1.85±0.24ABa	2.10±0.50Aa	1.58±0.07ABa	_

表 6 不同水分处理下发草叶片脯氨酸代谢关键酶活性的动态变化

## 2.4 水分胁迫下发草叶片 Pro 代谢中各代谢物、关键酶之间的相关性

对水分胁迫下发草 Pro 代谢途径中 Pro、Glu、Om 等 10 个指标进行相关性分析(表 7),结果表明:发草 Pro 含量与 Glu 和 Om 含量、ProDH 活性具有显著负相关(P<0.05),与 GSA 和 P5C 含量及  $\delta$ -OAT 活性具有极显 著正相关(P<0.01);Glu 含量与 GSA 含量、 $\delta$ -OAT 活性间存在极显著负相关(P<0.01),与 P5CS 和 P5CR 活性 间存在极显著正相关(P<0.01);Om 含量与 P5C 含量、P5CR 活性具有极显著正相关(P<0.01),与 GSA 含量 具有显著正相关(P<0.05),与 P5CDH 活性存在显著负(P<0.05);GSA 含量与 P5C 含量、 $\delta$ -OAT 活性间具有 极显著正相关(P<0.01),与 ProDH 活性具有显著负相关(P<0.05);P5C 含量与 P5CR 活性间存在极显著正相 关(P<0.01),与  $\delta$ -OAT 活性间具有显著正相关(P<0.05);P5CS 活性与 P5CR 活性间具有极显著正相关(P<0.01); P5CDH 活性与  $\delta$ -OAT 活性间具有显著正相关(P<0.05)。

## 3 讨论

## 3.1 水分胁迫对发草叶片 Pro 含量变化的影响

Pro 是分子透性最大、极易溶于水的相容性渗透剂和抗氧化剂,在植物体内分布广泛并以游离状态存在。 Pro 的水合能力很强,在抵抗水分胁迫中发挥重要作用<sup>[5,17]</sup>。Pro 的积累可提高细胞液浓度,有效保持渗透平衡,使水分进入细胞或降低水分从细胞中流出,防止细胞过度缺水而变形<sup>[7]</sup>;Pro 和酶相互作用可以稳定蛋白

Table 7 Correlation analysis of inclabolics and key enzymes of 110 inclabolism in D. caespuosa leaves											
指标 Indicators	脯氨酸 (Pro)	谷氨酸 (Glu)	鸟氨酸 ( 0m)	谷氨酸半醛 (GSA)	Δ <sup>1</sup> -吡咯 琳-5-羧酸 (P5C)	Δ <sup>1</sup> -吡咯 琳-5-羧酸 合成酶 (P5CS)	Δ <sup>1</sup> -吡咯 琳-5-羧酸 脱氢酶 (P5CDH)	鸟氨酸 转氨酶 (δ-OAT)	Δ <sup>1</sup> -吡咯 琳-5-羧酸 还原酶 (P5CR)		
谷氨酸(Glu)	-0.312 *	1.000									
鸟氨酸(0m)	-0.185 *	0.155	1.000								
谷氨酸半醛(GSA)	0.412 **	-0.335 **	0.238 *	1.000							
Δ <sup>1</sup> -吡咯琳-5-羧酸(P5C)	0.428 **	0.031	0.364 **	0.395 **	1.000						
$\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸合成酶(P5CS)	0.123	0.366 **	-0.186	-0.102	-0.016	1.000					
$\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸脱氢酶(P5CDH)	-0.016	0.107	-0.196 *	0.068	0.009	0.171	1.000				
鸟氨酸转氨酶(δ-OAT)	0.392 **	-0.504 **	-0.097	0.259 **	0.204 *	-0.177	0.302 **	1.000			
$\Delta^1$ -吡咯琳-5-羧酸还原酶(P5CR)	0.098	0.486 **	0.287 **	0.014	0.299 **	0.230 *	-0.038	-0.194	1.000		
脯氨酸脱氢酶(ProDH)	-0.201 *	-0.047	-0.094	-0.249 *	-0.136	0.066	-0.015	0.008	-0.087		

表 7 发草叶片 Pro 代谢中各代谢物、关键酶之间的相关性

Pro:脯氨酸 Proline; Glu:谷氨酸 Glutamate; Orn: 鸟氨酸 Ornithine; GSA:谷氨酸半醛 Glutamic-γ-semialdehyde; P5C: Δ<sup>1</sup>-吡咯琳-5-羧酸 Δ<sup>1</sup>-pyrroline-5-carboxylate; P5CS: Δ<sup>1</sup>-吡咯琳-5-羧酸合成酶 Δ<sup>1</sup>-pyrroline-5-carboxylate synthetase; P5CDH: Δ<sup>1</sup>-吡咯琳-5-羧酸脱氢酶 Δ<sup>1</sup>-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenas; δ-OAT: 鸟氨酸转氨酶 Ornithine aminotransferase; P5CR: Δ<sup>1</sup>-吡咯琳-5-羧酸还原酶 Δ<sup>1</sup>-pyrroline-5-carboxylate reductase; \* \*在 0.01 水平(双侧)上显著相关, \*在 0.05 水平(双侧)上显著 相关

质的结构,保持细胞膜完整性,防止膜蛋白变性<sup>[6]</sup>;Pro具有保护光复合物 II 的作用<sup>[36]</sup>,维持逆境胁迫下植株 正常的光合作用<sup>[37]</sup>。因此,逆境中植物体内 Pro 含量升高既可能是植物适应性的表现,也可能是植物细胞受 损的表征<sup>[5,15-16]</sup>。大量研究将 Pro 含量高低作为衡量植物抵抗逆境能力强弱的指标<sup>[38-39]</sup>。因此,发草体内 Pro含量高低可作为衡量在水分胁迫环境下发草抗逆性强弱的指标。本研究结果表明,干旱到水涝的梯度水 分胁迫下,发草叶片 Pro 含量均显著升高(P<0.05),说明发草植株内 Pro 含量的升高是主动积累的过程,通过 积累 Pro 来缓解水分胁迫损伤。本研究结果证实植物受到干旱、水涝等水分胁迫时会通过积累 Pro 来增强对 逆境的抵抗能力<sup>[38-39]</sup>。随着处理时间延长,水分胁迫下发草植株内 Pro 含量升高,但 21 d 前后 Pro 含量不再 增加甚至有下降趋势。前期和中期,生长于水分逆境下的发草叶片内 Pro 含量逐渐积累,调节发草细胞质渗 透压,稳定了生物大分子的结构,提高了发草抗逆性,保证生理代谢正常进行。后期,发草逐渐对水分逆境产 生适应性,体内 Pro 含量保持稳定。目前,其他植物与发草对水分逆境抗逆性强弱的比较研究尚无报道,但本 研究中重度干旱和重度水涝胁迫下发草分别于处理 21 d 和 28 d 后死亡,表明发草对水涝和干旱具有较强的 耐受性及旱涝"共耐性"特征。任青吉等<sup>[40]</sup>对高寒沼泽化草甸上的华扁穗草(Blysmus sinocompressus)、草地早 熟禾(Poa pratensis)、发草等 51 种植物的叶片形态特征和光合生理进行了比较研究,发现发草的水分利用效 率(water use efficiency, WUE) 最高为 3.76 µmolCO<sub>2</sub>/mmol H<sub>2</sub>O, 而蒸腾速率(transpiration rate, Tr) 最低为 4 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>。高的水分利用效率和低的蒸腾速率保证了发草可以在水分状况较差的土壤上正常生长。 3.2 水分胁迫对发草叶片 Pro 代谢中各代谢物含量及关键酶活性变化的影响

不同植物、甚至同一植物在不同环境条件下 Pro 累积的代谢途径不相同<sup>[6,15-16]</sup>。总体来说,逆境胁迫下 Pro 的积累一方面是 Pro 合成代谢加快,另一方面是 Pro 氧化分解速率降低<sup>[11]</sup>。水分胁迫下,植物体内 Pro 代谢关键酶活性变化直接决定 Pro 的积累状况。本研究发现,干旱到水涝梯度水分胁迫下,发草叶片内 Glu 途 径中底物 Glu 的含量和 Om 途径中底物 Om 的含量均显著下降(*P*<0.05),同时 P5CS 活性、δ-OAT 活性、P5CR 活性均显著增强(*P*<0.05),表明 Pro 合成代谢中 Glu 途径和 Om 途径加强。P5CS 活性、δ-OAT 活性、P5CR 活性增强可能是水分胁迫时植物体内诱导一些具有脱氨、同分异构或氧化蛋白质中氨基酸残酶的活性增强,使 P5CS、甜菜碱醛脱氢酶(BADH)、δ-OAT、P5CR 的转录水平上调<sup>[41]</sup>。而 ProDH 活性显著降低(*P*<0.05),表明 Pro 分解代谢受到抑制,说明水分胁迫条件下发草 Pro 含量升高是通过合成代谢的加强和分解代谢的抑制而 主动积累的结果,与 Das 等<sup>[6]</sup>的研究结果相似。通过 Pro 含量与 Pro 代谢中各代谢物、关键酶之间的相关性

分析发现 Pro 含量与 δ-OAT 活性具有显著性正相关(P<0.01),而与 P5CS 无显著相关性,可能与 P5CS 受 Pro 的负反馈调节有关,当 Pro 含量增加时负反馈调节抑制了 P5CS 活性,而 δ-OAT 活性不受 Pro 的反馈调节<sup>[42]</sup>。

#### 4 结论

干旱到水涝的梯度水分胁迫下,发草叶片通过提高其 Pro 含量来缓解渗透胁迫造成的伤害。发草叶片内 Pro 含量的升高是主动积累的过程,是 Glu 途径和 Orn 途径共同作用的结果。持续 21 d 的重度干旱处理和持续 28 d 的重度水涝处理时发草死亡,共同表明发草对水涝和干旱具有较强的耐受性。

#### 参考文献(References):

- [1] 刘婵,刘冰,赵文智,朱钊岑.黑河流域植被水分利用效率时空分异及其对降水和气温的响应.生态学报,2020,40(3):888-899.
- [2] 张静,李素慧,宋海燕,陈金艺,王佳敏,李若溪,杨静,陶建平,刘锦春.模拟喀斯特不同土壤生境下黑麦草对水分胁迫的生长和光合 生理响应.生态学报,2020,40(4):1240-1248.
- [3] Das S K, Patra J K, Thatoi H. Antioxidative response to abiotic and biotic stresses in mangrove plants: a review. International Review of Hydrobiology, 2016, 101(1/2): 3-19.
- [4] Nadeem M, Li J J, Yahya M, Sher A, Ma C X, Wang X B, Qiu L J. Research progress and perspective on drought stress in legumes: a review. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(10): 2541.
- [5] Boyce R L, Durtsche R D. Plant colonization of a restored wetland in northern Kentucky: contribution of seeding vs. natural sources. The Journal of the Torrey Botanical Society, 2020, 147(1): 9-21.
- [6] Das B, Padhiary A K, Behera S, Mishra S P, Jena M, Swain S, Rout S. Biochemical changes in some rice varieties in response to waterlogged and submerged conditions. International Journal of Pure & Applied Bioscience, 2017, 5(5): 972-978.
- [7] El Moukhtari A, Cabassa-Hourton C, Farissi M, Savouré A. How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development? Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 1127.
- [8] 张海娜,鲁向晖,金志农,李阳,王瑞峰,李宗勋,刘利昆.高温条件下稀土尾砂干旱对4种植物生理特性的影响.生态学报,2019,39 (7):2426-2434.
- [9] 王凯悦,陈芳泉,黄五星.植物干旱胁迫响应机制研究进展.中国农业科技导报,2019,21(2):19-25.
- [10] 王竞红, 张秀梅, 陈艾, 周蕴薇, 陈鹏, 江远芳. 紫穗槐幼苗根系生理特性和解剖结构对 PEG-6000 模拟干旱的响应. 生态学报, 2018, 38 (2): 511-517.
- [11] Khan M S, Ahmad D, Khan M A. Utilization of genes encoding osmoprotectants in transgenic plants for enhanced abiotic stress tolerance. Electronic Journal of Biotechnology, 2015, 18(4): 257-266.
- [12] Bian W J, Bao G Z, Qian H M, Song Z W, Qi Z M, Zhang M Y, Chen W W, Dong W Y. Physiological response characteristics in *Medicago sativa* under freeze-thaw and deicing salt stress. Water, Air, & Soil Pollution, 2018, 229(6): 196.
- [13] 李柯,周庄煜,李四菊,姚浩铮,周莹,缪雨静,唐晓清,王康才.荆芥的生长、渗透调节和抗氧化能力对干旱胁迫的响应.草业学报, 2020,29(5):150-158.
- [14] 陈琳,张俪文,刘子亭,路峰,冯光海,颜坤,韩广轩.黄河三角洲河滩与潮滩芦苇对盐胁迫的生理生态响应.生态学报,2020,40(6): 2090-2098.
- [15] 曾令霜,李培英,孙晓梵,孙宗玖.新疆不同生境狗牙根种质抗旱性综合评价.草业学报,2020,29(8):155-169.
- [16] Tuo X Q, Li S, Wu Q S, Zou Y N. Alleviation of waterlogged stress in peach seedlings inoculated with Funneliformis mosseae: changes in chlorophyll and proline metabolism. Scientia Horticulturae, 2015, 197: 130-134.
- [17] 徐亚军,赵龙飞,邢鸿福,罗云霄,魏正欣.内生细菌对盐胁迫下小麦幼苗脯氨酸和丙二醛的影响.生态学报,2020,40(11): 3726-3737.
- [18] Bao G Z, Ao Q, Li Q Q, Bao Y S, Zheng Y, Feng X X, Ding X M. Physiological characteristics of *Medicago sativa* L. in response to acid deposition and freeze-thaw stress. Water, Air, & Soil Pollution, 2017, 228(9): 376.
- [19] 顾文毅.发草种子繁殖技术研究.青海科技,2007,14(4):30-32.
- [20] 王彦龙,马玉寿,施建军,李世雄,盛丽.发草栽培驯化研究初报.青海畜牧兽医杂志,2019,49(2):21-24.
- [21] Meharg A A, Macnair M R. The mechanisms of arsenate tolerance in *Deschampsia cespitosa* (L.) Beauv. and *Agrostis capillaris* L. New Phytologist, 1991, 119(2): 291-297.
- [22] 孙明德, 孙连生, 吕金博. 发草是高寒地区的优良牧草. 青海草业, 1994, 3(3): 7-8, 12-12.

#### http://www.ecologica.cn

- [23] 雷舒涵, 许蕾, 白小明. 温度及盐胁迫对 7 个野生观赏草种子萌发特性的影响. 草原与草坪, 2017, 37(2): 20-28.
- [24] Li H L, Li X L, Zhou X L. Trait means predict performance under water limitation better than plasticity for seedlings of Poaceae species on the eastern Tibetan Plateau. Ecology and Evolution, 2020, 10(6): 2944-2955.
- [25] 王海星. 西北半干旱区湿地植被群落特征研究及其 LUCC 评价体系构建[D]. 北京:北京林业大学, 2012.
- [26] 罗巧玉,王彦龙,杜雷,刘念,李丽,马玉寿.黄河源区发草适生地植物群落特征及其土壤因子解释.草业学报,2021,30(4):80-89.
- [27] 朱耀军,马牧源,赵娜娜. 若尔盖高寒泥炭地修复技术进展与展望. 生态学杂志, 2020, 39(12): 4185-4192.
- [28] 时振振,李胜,马绍英,王雅梅,苏李维,唐斌,赵生琴,苏利荣.不同品种小麦抗氧化系统对水分胁迫的响应.草业学报,2015,24 (7):68-78.
- [29] 朱桂才. 共耐性植物李氏禾(Leersiahexandra)的水分逆境生理生态适应机制研究[D]. 广州: 中山大学, 2011.
- [30] 钟诚,张军保. 田间持水量测定方法研究及对比分析. 农业与技术, 2014, 34(12): 29-30.
- [31] Ogbaga C C, Stepien P, Johnson G N. Sorghum (*Sorghum bicolor*) varieties adopt strongly contrasting strategies in response to drought. Physiologia Plantarum, 2014, 152(2): 389-401.
- [32] 高俊凤. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2006: 15-16, 228-231.
- [33] Lutts S, Majerus V, Kinet J M. NaCl effects on proline metabolism in rice (Oryza sativa) seedlings. Physiologia Plantarum, 1999, 105(3): 450-458.
- [34] García-Ríos M, Fujita T, LaRosa P C, Locy R D, Clithero J M, Bressan R A, Csonka L N. Cloning of a polycistronic cDNA from tomato encoding γ-glutamyl kinase and γ-glutamyl phosphate reductase. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94 (15): 8249-8254.
- [35] Charest C, Phan C T. Cold acclimation of wheat (*Triticum aestivum*): properties of enzymes involved in proline metabolism. Physiologia Plantarum, 1990, 80(2): 159-168.
- [36] Wani A S, Ahmad A, Hayat S, Tahir I. Epibrassinolide and proline alleviate the photosynthetic and yield inhibition under salt stress by acting on antioxidant system in mustard. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 135: 385-394.
- [37] Zouari M, Ben Ahmed C, Zorrig W, Elloumi N, Rabhi M, Delmail D, Ben Rouina B, Labrousse P, Ben Abdallah F. Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Ecotoxicology and Environmental Safety, 2016, 128: 100-108.
- [38] Ren Y B, Miao M, Meng Y, Cao J S, Fan T T, Yue J Y, Xiao F M, Liu Y S, Cao S Q. DFR1-mediated inhibition of proline degradation pathway regulates drought and freezing tolerance in *Arabidopsis*. Cell Reports, 2018, 23(13): 3960-3974.
- [39] Su J C, Zhang Y H, Nie Y, Cheng D, Wang R, Hu H L, Chen J, Zhang J F, Du Y W, Shen W B. Hydrogen-induced osmotic tolerance is associated with nitric oxide-mediated proline accumulation and reestablishment of redox balance in alfalfa seedlings. Environmental and Experimental Botany, 2018, 147: 249-260.
- [40] 任青吉,李宏林,卜海燕.玛曲高寒沼泽化草甸 51 种植物光合生理和叶片形态特征的比较.植物生态学报,2015,39(6):593-603.
- [41] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science, 2004, 9(10): 490-498.
- [42] 李丹阳, 闫永庆, 殷媛, 王馨, 高梦蕾, 王群. 外源 Spd 和 NO 对盐胁迫下玉竹脯氨酸代谢途径的影响. 河南农业科学, 2018, 47(6): 111-116.