

摘要

东北草原生态系统是中国最大的草原生态系统之一，是中国的“大粮仓”，支撑一系列畜牧业和农业经济活动，对我国生态安全建设、畜牧农经济发展以及社会可持续性具有十分重要的生态学意义。冻融和化感作用是东北草原生态系统两个主要的生态胁迫因子。然而，以往的研究多集中在冻融或化感作用的单一因子对植物的影响，很少关注冻融与化感作用复合胁迫对草原植物的影响，不利于草原脆弱生态带及东北草原在内的高纬度地区草原生态系统的科学管理。

本研究以黑麦 (*Secale cereale* L.) 为实验材料，青蒿素和三裂叶豚草浸提液为化感作用胁迫因子，通过室内模拟冻融环境，分别探究了单一冻融循环、多重冻融循环两种不同冻融模式和化感作用复合胁迫对黑麦幼苗的生理影响，测定黑麦幼苗叶片中的生理指标。主要结果如下：

(1) 单一冻融循环模式：化感作用胁迫下，黑麦幼苗丙二醛 (MDA) 含量、可溶性蛋白 (SP) 含量、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性显著上升 18.6~110.0%，呼吸速率 (Rr) 显著下降 15.0~22.9%。单一冻融胁迫处理后，黑麦幼苗 MDA 和 SP 含量随着冻融进程 (先冻结后解冻) 表现为先上升后下降，显著上升 21.8~96.7%，SOD、CAT 和 Rr 表现为先下降后上升，SOD 和 CAT 活性上升 0.4~73.0%，Rr 显著下降 40.7~57.0%。在冻结阶段，冻融-青蒿素-三裂叶豚草浸提液复合胁迫 (FT-CS) 对黑麦幼苗 MDA 含量影响最大，上升了 150.4% ($P < 0.05$)，导致黑麦幼苗细胞膜严重膜脂过氧化，同时显著抑制了 SOD 活性，下降了 13.3% ($P < 0.05$)。在解冻阶段，冻结压力减小，黑麦幼苗 SOD 和 CAT 的活性得到一定程度的恢复，减轻 FT-CS 诱导的活性氧应激。

(2) 多重冻融循环模式：化感作用胁迫下，黑麦幼苗 MDA 含量、可溶性糖 (SS) 含量、SOD 和 CAT 活性显著上升 40.4~161.9%，净光合速率 (Pn) 显著下降 57.9~84.9%。多重冻融胁迫处理后，黑麦幼苗对不同胁迫的生理响应表现为复合胁迫 (FTs-CS) > 多重冻融-三裂叶豚草浸提液联合胁迫 (FTs-AES) > 多重冻融胁迫 (FTs) > 多重冻融-青蒿素联合胁迫 (FTs-AS)。FTs-AS 处理组的黑麦幼苗 SS 含量、SOD 和 CAT 活性分别显著上升 128.7%、63.4%、141.8% ($P < 0.05$)，表明在多重冻融环境下青蒿素能够显著提高黑麦幼苗的渗透调节能

力以及抗氧化酶活性。FTs-CS 处理对黑麦幼苗 MDA 含量的促进作用更强，上升了 293.7% ($P < 0.05$)，与非冻融组 CS 相比，FTs-CS 处理组的黑麦幼苗 SOD 活性、CAT 活性和光合参数下降了 20.6~98.8%，表明 FTs-CS 处理对黑麦幼苗的生理造成更大伤害。

综上所述，无论是单一冻融还是多重冻融，室内模拟的冻融环境与青蒿素-三裂叶豚草浸提液联合化感作用对黑麦幼苗的影响存在强烈的协同效应。冻融，青蒿素和三裂叶豚草浸提液三者复合胁迫对黑麦幼苗的生理损伤最为严重，能够破坏黑麦幼苗的细胞膜结构，加重细胞水分流失和抑制抗氧化酶活性。因此，在东北草原生态系统的管理过程中，应考虑冻融与化感作用互作效应对草原植物的影响，特别是在冬季冻融频繁发生时期，必须及时清除黄花蒿和三裂叶豚草的植株，以及它们的根际土壤，以规避冻融复合胁迫引发的生态灾害。

关键词：冻融；化感；青蒿素；三裂叶豚草；复合胁迫

Abstract

The northeast grassland ecosystem is one of the largest grassland ecosystems in China, which is called as China's "big granary", and it supports a series of animal husbandry and agricultural economic activities. So, it has very important ecological significance to China's ecological security construction, animal husbandry and agricultural economic development, and social sustainability. Freeze-thaw and allelopathy are the two main ecological stress factors in the northeast grassland ecosystem of China. However, previous studies mostly focused on the effects of a single factor of freeze-thaw or allelopathy on plants, and little attention was paid to the combined stress of freeze-thaw and allelopathy on grassland plants, which was not conducive to the scientific management of grassland ecosystems in high-latitude regions including grassland fragile ecological zones and northeast grassland.

In this study, rye (*Secale cereale* L.) was used as experimental material, and artemisinin and *Ambrosia trifida* L. extract were used as allelopathic factors. By simulating the freeze-thaw environment indoors, the physiological effects of combined stress of freeze-thaw and allelopathy on rye seedlings under two different freeze-thaw patterns, single freeze-thaw cycle and multiple freeze-thaw cycles, were explored. To determine the changes of physiological characteristics in the leaves of rye seedlings. The main results were as follows:

(1) Single Freeze-thaw Cycle: Under allelopathy stress, the activities of malondialdehyde (MDA), soluble protein (SP), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in rye seedlings significantly increased 18.6~110.0%, the respiratory rate (Rr) significantly decreased 15.0~22.9%. Under single freeze-thaw cycle stress, the contents of MDA and SP in rye seedlings increased first and then decreased with the freeze-thaw process (first freezing and then thawing), significantly increased 21.8~96.7%, while SOD, CAT and Rr decreased first and then increased, SOD and CAT activities increased 0.4~73.0%, Rr significantly decreased 40.7~57.0%. During the freezing stage, combined stress of freeze-thaw, artemisinin, *A. trifida* extract (FT-CS) had the greatest effect on MDA content of rye seedlings, which increased by 150.4%

($P < 0.05$), resulting in severe membrane lipid peroxidation in cells of rye seedlings, and at the same time significantly inhibited the SOD activity, which decreased by 13.3% ($P < 0.05$). During the thawing stage, the freezing pressure was reduced, and the activities of SOD and CAT in rye seedlings were restored to a certain extent, so as to alleviate the reactive oxygen species stress induced by FT-CS.

(2) Multiple Freeze-thaw Cycles: Under allelopathic stress, the MDA content, soluble sugar (SS) content, SOD and CAT activities of rye seedlings significantly increased 40.4~161.9%, and the net photosynthetic rate (Pn) significantly decreased 57.9~84.9%. Under multiple freeze-thaw cycles stress, the physiological responses of rye seedlings to different stresses were showed as combined stress of multiple freeze-thaws, artemisinin and *A. trifida* extract (FTs-CS) > combined stress of multiple freeze-thaws and *A. trifida* extract (FTs-AES) > multiple freeze-thaws (FTs) > combined stress of multiple freeze-thaws and artemisinin (FTs-AS). In the FTs-AS treatment, the activities of SS and antioxidant enzymes SOD and CAT in rye seedlings significantly increased by 128.7%, 63.4%, and 141.8%, respectively ($P < 0.05$), indicating that artemisinin could significantly improve the osmotic regulation ability and antioxidant enzyme activity of rye seedlings under multiple freeze-thaw environments. FTs-CS had the strongest promoting effect on the MDA content of rye seedlings, which increased by 293.7% ($P < 0.05$), and the SOD activity, CAT activity, and photosynthetic parameters of rye seedlings significantly reduced by 20.6~98.8%, indicating that FTs-CS could cause greater damages to the physiology of rye seedlings.

In summary, whether it was single freeze-thaw or multiple freeze-thaws, there is a strong synergistic interaction effect between the indoor simulated freeze-thaw environment and the combined allelopathy of artemisinin-*A. trifida* extract on rye seedlings. Combined stress of freeze-thaw-artemisinin-*A. trifida* extract caused the most serious physiological damage to rye seedlings, which destroyed the cell membrane structure of rye seedlings, aggravated cell water loss, and inhibited the activities of antioxidant enzymes. Thus, in the management of grassland ecosystem in Northeast China, the interaction effect between freeze-thaw and allelopathy on grassland plants should be considered. Especially, during the period of frequent freeze-thaw cycles in

winter, it is necessary to remove *Artemisia annua* L. and *A. trifida* plants including their rhizosphere soil in time, so as to avoid the grassland ecological disaster caused by the freeze-thaw combined stress.

Keywords: Freeze-thaw; Allelopathy; Artemisinin; *Ambrosia trifida* L.; Combined stress

关于学位论文使用授权的声明

本人完全了解吉林大学有关保留、使用学位论文的规定，同意吉林大学保留或向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅；本人授权吉林大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文和汇编本学位论文。

（保密论文在解密后应遵守此规定）

论文级别： 硕士 博士

学科专业： 环境科学

论文题目： 冻融环境下青蒿素及三裂叶豚草浸提液复合胁迫对黑麦幼苗的生理影响

作者签名： 郭建才

指导教师签名： 宗国章

2023 年 6 月 1 日

目 录

第 1 章 引言.....	1
1.1 研究背景与意义	1
1.2 国内外研究现状	4
1.2.1 冻融胁迫对植物的生理影响	4
1.2.2 青蒿素化感胁迫对植物的生理影响	5
1.2.3 三裂叶豚草化感胁迫对植物的生理影响	6
1.2.4 冻融与化感作用复合胁迫对植物的生理影响	7
1.3 研究目标、内容及技术路线	8
1.3.1 研究目标	8
1.3.2 研究内容	8
1.3.3 技术路线	9
1.4 创新点	9
第 2 章 实验材料与方法	10
2.1 实验材料	10
2.1.1 植物材料	10
2.1.2 实验试剂与仪器	10
2.2 化感物质浓度的选取	11
2.2.1 青蒿素浓度的选取	11
2.2.2 三裂叶豚草浸提液浓度的选取	11
2.3 实验方法	13
2.3.1 黑麦种子处理及培养	13
2.3.2 单一冻融-青蒿素-三裂叶豚草浸提液胁迫处理	13
2.3.3 多重冻融-青蒿素-三裂叶豚草浸提液胁迫处理	14
2.4 生理指标测定	15
2.4.1 丙二醛和可溶性糖含量	15
2.4.2 可溶性蛋白含量	16

2.4.3	抗氧化酶活性	17
2.4.4	光合指标	17
2.4.5	呼吸速率	18
2.5	数据处理	18
第 3 章	单一冻融环境下青蒿素及三裂叶豚草浸提液复合胁迫对黑 麦幼苗的生理影响	19
3.1	结果.....	19
3.1.1	丙二醛含量的变化.....	19
3.1.2	可溶性蛋白含量的变化	21
3.1.3	超氧化物歧化酶活性的变化.....	23
3.1.4	过氧化氢酶活性的变化	25
3.1.5	呼吸速率的变化	27
3.1.6	各生理指标间的相关性分析	29
3.2	讨论.....	31
3.2.1	对细胞膜的影响	31
3.2.2	对渗透调节物质的影响	32
3.2.3	对抗氧化酶活性的影响	32
3.2.4	对呼吸作用的影响	33
3.3	小结.....	34
第 4 章	多重冻融环境下青蒿素及三裂叶豚草浸提液复合胁迫对黑 麦幼苗的生理影响	35
4.1	结果.....	35
4.1.1	丙二醛含量的变化.....	35
4.1.2	可溶性糖含量的变化	37
4.1.3	超氧化物歧化酶活性的变化.....	39
4.1.4	过氧化氢酶活性的变化	41
4.1.5	光合指标的变化	43
4.1.6	各生理指标间的相关性分析	45

4.2 讨论.....	47
4.2.1 对细胞膜的影响.....	47
4.2.2 对渗透调节物质的影响.....	48
4.2.3 对抗氧化酶活性的影响.....	49
4.2.4 对光合作用的影响.....	50
4.3 小结.....	51
第5章 结论与展望.....	52
5.1 结论.....	52
5.2 展望.....	53
参考文献.....	54
附录.....	65
个人简介及学术成果.....	66
致谢.....	67

缩略语表

缩写	英文全称	中文全称
SOD	Superoxide dismutase	超氧化物歧化酶
CAT	Catalase	过氧化氢酶
POD	Peroxidase	过氧化物酶
MDA	Malondialdehyde	丙二醛
ROS	Reactive oxygen species	活性氧
PSII	Photosynthetic system II	光合系统 II
SS	Soluble sugar	可溶性糖
SP	Soluble protein	可溶性蛋白
Pn	Net photosynthetic rate	净光合作用
Gs	Stomatal conductance	气孔导度
WUE	Water use efficiency	水分利用率
Tr	Transpiration rate	蒸腾速率
Rr	Respiratory rate	呼吸速率
AS	Artemisinin stress	青蒿素胁迫
AES	<i>A. trifida</i> extract stress	三裂叶豚草浸提液胁迫
CS	Combined stress of artemisinin and <i>A. trifida</i> extract	青蒿素-三裂叶豚草浸提液联合胁迫
FT	Freeze-thaw	冻融胁迫
FTs	Multiple freeze-thaws	多重冻融胁迫
FT-AS	Freeze-thaw-artemisinin combined stress	冻融-青蒿素联合胁迫
FT-AES	Freeze-thaw- <i>A. trifida</i> extract combined stress	冻融-三裂叶豚草浸提液联合胁迫
FT-CS	Freeze-thaw-artemisinin- <i>A. trifida</i> extract combined stress	冻融-青蒿素-三裂叶豚草浸提液复合胁迫
FTs-AS	Multiple freeze-thaws-artemisinin combined stress	多重冻融-青蒿素联合胁迫
FTs-AES	Multiple freeze-thaws- <i>A. trifida</i> extract combined stress	多重冻融-三裂叶豚草浸提液联合胁迫
FTs-CS	Multiple freeze-thaws-artemisinin- <i>A. trifida</i> extract combined stress	多重冻融-青蒿素-三裂叶豚草浸提液复合胁迫

第 1 章 引言

1.1 研究背景与意义

草原生态系统是一种广泛分布的生态系统类型，主要分布在大陆地表覆盖面积约为 25% 以上的地区，包括亚热带、温带和寒带地区，是陆地生态系统的重要组成部分^[1]。东北草原是中国最大的草原生态系统之一，横跨中国东北地区，面积约 10 万平方千米，草原植被独特，在维持陆地生态系统稳定、全球碳水循环和减轻气候变化方面发挥着重要作用^[2-4]。东北草原生态系统具有重要的碳汇功能，参与全球碳循环过程，通过吸收大气中的温室气体二氧化碳来减轻气候变化的影响^[5]。东北草原生态系统的土壤十分优渥，包含丰富的“耕田中的大熊猫”——黑土地资源，草被的广泛根系有助于改善土壤结构，而分解的腐殖质作为有机碳固定在土壤中，能够为土壤增加养分^[6]。东北草原生态系统是东北地区经济结构的重要组成部分，支撑一系列畜牧业和农业生产活动，不仅是中国的大粮仓，还为牲畜放牧提供了牧草资源，与中国东北地区的经济发展息息相关^[7]。

《东北全面振兴“十四五”实施方案》中，提出要确保国家粮食“压舱石”地位更加巩固，祖国北疆生态安全屏障更加牢固^[8]。然而，东北草原生态系统面临许多生态问题和威胁。草地退化问题严峻，据统计到 2015 年东北草地面积缩减约至 16.7 万平方千米，占东北地区总面积的比重由 14.2% 下降至 13.4%^[9]。外来生物入侵数量明显增加，严重破坏草地生态系统群落结构和功能，加剧生态系统的退化^[10]。此外，草地破碎化，植被覆盖丧失，植物生产力和生态系统服务功能下降等问题日益突出^[11-13]。因此，东北草原生态系统的保护对于我国生态环境建设、发展畜牧农经济以及社会可持续发展具有重要的生态学意义。

冻融是东北草原生态系统的一个主要生态胁迫因子。在冬季或早春，当温度短时间内高于或低于冰点时，就会出现冻融现象。随着全球气候变暖压力的增加，冻结-解冻的频率和强度持续加剧^[14]。冻融可以改变植物物候，破坏植被类型，导致土壤水分和养分的流失，影响草原生态系统功能^[15]。一方面，冻融会导致草地土壤膨胀和收缩，促使土壤结构形成裂缝以及土壤颗粒发生位移，造成土壤结

构和质地的改变^[16]。土壤结冰时,变得坚硬而致密,使得水分难以渗透,解冻后形成涝渍,容易导致缺氧环境,对草原植物的生长和生产力产生负面影响^[17]。冻融可以提高土壤中有机物质的矿化率,增加植物生长所需的养分,然而,土壤结构的不稳定又会增加有机物质养分的损失,这些过程的净影响是使土壤稳定性降低,养分流失以及对侵蚀的敏感性增加^[18]。另一方面,冻融也影响草原生态系统中的植被。反复的冻融会对草原植物的组织造成不可逆的物理损伤,包括破坏细胞壁结构,抑制植物生长和物候变化。这些变化会延迟草原植物生长季节的开始时间,导致生长季节缩短,从而对草原生产力以及关键生态系统过程的时间产生重大影响,如养分循环和碳汇周期^[19,20]。草原植物能够对冻融表现出一定的适应能力。例如黑麦草体内具有一种特殊的抗冻蛋白,它们能够抵御组织内的结冰,限制组织内冰晶的生长导致冰晶在限定的温度范围内稳定,减少解冻过程中水分的损失^[21]。

三裂叶豚草 (*Ambrosia trifida* L.) 俗称大破布草,属于菊科 (Compositae) 的一年生草本植物。它原本是北美的本土植物,20 世纪初首次出现在中国辽宁铁岭,现已在东北地区广泛分布,有向南迁移扩散的趋势^[22]。三裂叶豚草是我国东北地区危害最为严重的外来入侵植物之一,严重破坏当地植物的生长及自然植被的演替、制约畜牧业的发展和人类生产活动、威胁东北草原和农业生态系统的生态安全^[23-25]。三裂叶豚草适应性极强,生长速度极快,能够在各种土壤状况中生长,成熟植株甚至高达 3 米,远超过同生态系统中的其他植物。化感作用是三裂叶豚草入侵最主要的化学武器,通过释放次生代谢化感物质,影响其他植物种子萌发以及植株的生长,达到支配和改变草地群落结构和组成,导致生物多样性的降低,整体生态系统稳定性下降^[26]。此外,三裂叶豚草对草原生态系统的经济价值有重大影响。三裂叶豚草入侵和主宰农业耕地大大降低了土地的生产力,甚至导致作物的绝产^[27]。据统计,以三裂叶豚草为首的主要恶性杂草灾变区域面积达 48320 多万亩,涵盖东北、华北、华东、中南及西南,每年造成 84 亿的经济损失^[28]。由于需要额外的除草剂和劳动力来控制三裂叶豚草的传播,这大大增加作物生产的成本,并且除草剂的使用会对环境和生态系统产生负面影响。因此,需要采取较为全面的方法控制管理三裂叶豚草,以确保东北草原生态系统的可持续性。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/978013012106006043>