

核桃青皮分解对小白菜生长及生理特性的影响

史洪洲^{1,2}, 胡庭兴^{1*}, 陈洪¹, 王茜¹, 胡红玲¹, 刘永安^{1,2}, 丁伟¹, 李仲彬¹

(1 四川农业大学 林学院, 四川省林业生态工程省级重点实验室, 四川雅安 625014; 2 凉山彝族自治州林业科学研究所, 四川凉山 615000)

摘要: 采用盆栽试验, 研究了不同剂量核桃 (*Juglans regia* L.) 青皮在土壤中分解过程中对受体植物小白菜 (*Brassica rapa* L. var. *chinensis*) 幼苗生长及其生理特性的影响, 探讨核桃青皮的化感作用机理。结果表明: (1) 核桃青皮在施入土壤的 75 d 内, 显著抑制了小白菜地上部分生物量的积累。(2) 各剂量青皮处理小白菜叶片的叶绿素含量在施入 20 d 时均较 CK 降低, 且随着处理时间延长总体呈减少趋势。(3) 各剂量青皮处理小白菜叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性在施入 20 d 和 75 d 时大多比对照显著升高, 且有随剂量增加而增强的趋势, 但过氧化氢酶(CAT)活性则随添加量增大或处理时间延长多无显著变化。(4) 小白菜叶片可溶性糖(SS)含量在施入 20 d 时随青皮添加量的增加而增加, 后期则表现为显著下降, 而可溶性蛋白(SP)和脯氨酸(Pro)含量在整个处理期则呈减少趋势。研究认为, 核桃青皮在土壤中分解可能对小白菜的生长和抗性生理指标产生了明显的化感作用, 其化感作用强度随其分解时间延长呈先强后弱的变化趋势, 且高添加量产生的效应比低添加量快而且强。

关键词: 核桃; 核桃青皮; 化感作用; 小白菜; 生理特性

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A

Effect of Decomposing Walnut Green Husk on Growth and Physiological Characteristics of *Brassica rapa* L. var. *chinensis* Seedling

SHI Hongzhou^{1,2}, HU Tingxing^{1*}, CHEN Hong¹, WANG Qian¹,
HU Hongling¹, LIU Yongan^{1,2}, DING Wei¹, LI Zhongbin¹

(1 College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Key Laboratory of Forestry Ecological Engineering of Sichuan Province, Ya'an, Sichuan 625014, China; 2 Liangshan Institute of Forestry, Liangshan, Sichuan 615000, China)

Abstract: A pot experiment was conducted to study the effects of the decomposing walnut (*Juglans regia* L.) green husk on the growth of *Brassica rapa* L. var. *chinensis* seedling group. The results showed as follows: (1) The aboveground fresh weight of *B. rapa* L. var. *chinensis* seedling was inhibited significantly by each treatment at 20 d, 45 d and 75 d after sowing; (2) The chlorophyll content of *B. rapa* L. var. *chinensis* seedling was significantly lower than that in CK at 20 d. As the time extended, the chlorophyll content of *B. rapa* L. var. *chinensis* showed a trend of decrease; (3) The activities of superoxide dismutase(SOD) and peroxidase(POD) increased during the observation period, but catalase(CAT) activity did not showed the significant change in 70 d; (4) The contents of soluble protein(SP) and proline(Pro) reduced with the increasing addition of walnut green husk, while the soluble sugar(SS) content was significantly lower than that of CK at 45 d and 75 d. Generally, the allelopathic intensity of walnut green husk on *B. rapa* L. var. *chinensis* seedling was strong at early time, but got weaker with prolonged time, and comparatively, high

收稿日期: 2014-05-14; 修改稿收到日期: 2014-11-23

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2011BAC09B05); “十二五”四川省农作物育种攻关项目(2011NZ0098-10)

作者简介: 史洪洲(1990-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事森林培育学相关研究。E-mail: 95547063@qq.com

* 通信作者: 胡庭兴, 教授, 博士生导师, 主要从事林木栽培生理及森林生态学相关研究。E-mail: hutx001@aliyun.com

doses of green husk generated allelopathic effects earlier and stronger.

Key words: *Juglans regia* L.; walnut green husk; allelopathic effect; *Brassica rapa* L. var. *chinensis* seedling; physiological characteristics

随着人口急剧增加、资源过度消耗和生态环境问题日益严重,农林复合系统(Agroforestry system)作为具有可持续发展的土地利用和经营方式越来越受到人们的重视^[1-3]。核桃(*Juglans regia*)又名胡桃、羌桃,是胡桃科(Juglandaceae)核桃属(*Juglans*)落叶乔木,其种仁营养丰富,风味独特,是世界四大干果之一。核桃青皮为核桃未成熟时外部一层厚厚的绿色果皮,随着核桃成熟,青果皮会逐渐变黑,最后自然脱落。核桃青皮中的多酚类物质具有抗氧化、抗炎、保护皮肤、抗肿瘤等多种生物学活性^[4],同时核桃青皮中所含有的5,8-二羟基-1,4萘醌、5-羟基-3,3'-双胡桃醌和5-羟基-3,3'-双胡桃醌等胡桃醌的衍生物具有强烈的化感作用,并且随着存储时间的延长,青皮中胡桃醌含量逐渐减少^[5-6]。孙广仁等^[7]研究了核桃青皮中挥发性成分胡椒烯、金合欢醇、氧化石竹烯和 α -杜松醇对表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、猪霍乱沙门氏菌、肺炎球菌、痢疾志贺氏菌这5种人类致病细菌的抑制作用;Sharokh等^[8]发现核桃青皮中可提取一种天然抗氧化剂没食子酸,它能够抑制低密度脂蛋白氧化。同时,核桃青皮提取物可通过剂量等方式抑制增殖相关基因和诱导凋亡相关基因表达^[9];核桃青皮水提液对小麦(*Triticum aestivum*)和三叶草(*Trifolium pratense*)的生长具有抑制作用,抑制率随水提液浓度的增大而增强^[10];核桃青皮乙醇提取液对油菜(*Brassica campestris*)、黑麦草(*Lolium perenne*)、萝卜(*Raphanus sativus*)等6种受体具有抑制作用^[11],核桃青皮中低极性组分对绿豆(*Vigna radiata*)、小麦(*Triticum aestivum*)、高羊茅(*Festuca arundinacea*)等6种受体的发芽率和幼苗生长均有抑制作用^[12]。

在中国南方农村,核桃树常作为四旁树种植于房前屋后,与园地毗邻。近年来,随着农业产业结构调整 and 退耕还林工程的实施,又发展了大面积核桃人工林。在核桃人工林中常见到行间套作多种农作物的情况,林下套种油菜、小白菜在四川地区更是常见。有研究表明核桃林与魔芋、金银花、板栗等套种,可收获更高经济效益^[13-15]。核桃树及其凋落物的化感作用已所研究,但其研究方法往往是取供体组织器官一次性浸提液培养受体植物,且多侧重于受体种子萌发、幼苗生长初期在形态及抗性生理方

面的响应。这种处理方式一方面可能使得化感物质高度浓缩,另一方面与自然状态下核桃产生化感作用的形式存在较大差异。因为植物通过各种途径释放的化感物质最终都将进入土壤^[16],且在土壤微生物、土壤水分、养分等物质共同作用下对邻体植物产生影响。缺少了土壤介质,可能使得研究结果较难为生产实践提供有力理论支持。因此,本研究以四川地区常见蔬菜作物小白菜为受体,采用盆栽试验,在混有核桃青皮的土壤中种植小白菜,初步探讨核桃青皮进入土壤后分解对小白菜生长的影响,为深入了解核桃青皮的化感作用机理,核桃-农作物复合系统的经营管理提供一定的理论依据和参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 供体材料 在川西高山峡谷区20年生核桃林下搜集近期农民采收核桃果实堆积在田边的青皮,取回后堆沤1周,然后破碎成0.1~0.5 cm³左右的小块,风干备用。

1.1.2 受体材料 选择四川普遍种植的四季小白菜为受体植物,播种前选择饱满、大小均一的种粒,晒种1 d,0.1% HgCl₂消毒,待用。

1.1.3 栽植容器与土壤 采用统一规格聚乙烯塑料盆(口径29 cm、盆高25 cm)进行盆栽实验。土壤选择农田沙壤土(pH 7.85,有机质24.382 g·kg⁻¹,全氮0.662 g·kg⁻¹,全磷0.665 g·kg⁻¹,全钾5.571 g·kg⁻¹,速效磷14.726 mg·kg⁻¹,速效钾16.146 mg·kg⁻¹),清除土壤中少量石砾和草根。

1.2 试验设计

试验于2012年10月至2013年2月在四川省雅安市四川农业大学教学科研园区进行,采用单因素随机试验设计。参照核桃凋落叶分解的化感作用研究中的剂量梯度^[17],设置每盆施用量30 g(A₁)、60 g(A₂)、120 g(A₃)和180 g(A₄)4个处理水平,对照不施加青皮(CK)。每处理6次重复,共30盆。10月18日,分别将处理青皮与8 kg土壤均匀混合装入盆中,适量浇水浸湿表土,均匀播种相同数量的(30粒/盆)小白菜种子,覆土1 cm,浇透水。之后每2 d采用HH2便携式土壤水分测定仪(ML2x, GBR)监测土壤含水量,将土壤体积含水量控制在

18%左右。待各处理种子全部出芽后间苗 1 次。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 生物量和叶绿素含量 分别于播种后 20、45 和 75 d,采用匀苗的方式,从各处理中随机抽取幼苗 10 株,取成熟功能叶片测定其生理指标,由于幼苗生长初期,十分幼嫩,将样品烘干后,难以准确称量,故只采用精度为 0.001 g 电子天平称量植株地上部分鲜重。叶绿素含量采用丙酮-乙醇混合液提取法测定^[23]。

1.3.2 过氧化氢和丙二醛含量 活性氧过氧化氢(H_2O_2)含量参考吕波等^[22]的方法测定;膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸加热显色法测定^[19]。

1.3.3 抗氧化酶活性 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法^[18]测定,以抑制 NBT 光化还原的 50%为 1 个酶活性单位(U);过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法^[19]测定,将每分钟吸光度值(OD)增加 0.01 定义为 1 个酶活性单位(U);过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法^[20]测定,以 1 min 内 OD 减少 0.1 为 1 个酶活性单位(U)。将各酶活性除以可溶性蛋白含量,即可计算出各酶的比活力。

1.3.4 渗透调节物质含量 可溶性糖(SS)含量测定也采用硫代巴比妥酸加热显色法^[19],与 MDA 含量同时测出;可溶性蛋白(SP)含量测定采用考马斯亮蓝 G250 法^[19];脯氨酸(Pro)含量测定采用酸性茚三酮显色法^[21]。

1.4 数据处理

采用 SPSS 17.0 统计分析软件对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA),并用最小显著差数法(LSD 法)进行多重比较。

用化感效应指数(RI)^[24]来衡量核桃青皮对小白菜的化感效应,即:

$$RI=1-C/T(\text{当 } T \geq C \text{ 时}) \text{ 或 } RI=T/C-1(\text{当 } T < C \text{ 时})$$

式中, T 为处理值, C 为对照值,当 $RI > 0$ 时表示促进作用,当 $RI < 0$ 时表示抑制作用, RI 的绝对值代表强度。

2 结果与分析

2.1 核桃青皮分解物对小白菜生长和光合色素含量的影响

2.1.1 生物量 由表 1 可知,各剂量核桃青皮在施入土壤 20 和 45 d 时,小白菜地上部分生物量均较

表 1 核桃青皮分解过程中小白菜幼苗生物量的变化

Table 1 The aboveground fresh weight of *B. rapa* L. var. *chinensis* seedling at the course of decomposing walnut husk

| 青皮添加量 The amount of walnut husk/g | 地上部分鲜重 Fresh weight above ground | | |
|---|----------------------------------|---------------|---------------|
| | 20 d | 45 d | 75 d |
| 0(CK) | 0.413±0.032a | 5.846±0.901a | 12.312±1.569a |
| 30(A ₁) | 0.304±0.039b | 3.602±0.703b | 10.750±1.268a |
| 60(A ₂) | 0.239±0.033c | 2.440±0.093c | 7.438±0.298b |
| 120(A ₃) | 0.128±0.021d | 1.703±0.324cd | 6.521±0.449b |
| 180(A ₄) | 0.085±0.008d | 1.274±0.181d | 4.185±1.092c |

注:表中数据为平均值±标准差;同列不同字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异;下同。

Notes:Data in the table are mean±SE;The different letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level;The same as below.

CK 显著减少($P < 0.05$),其生长受到了明显抑制;施入 75 d 时,A₁ 处理与 CK 间差异已不显著($P > 0.05$),而 A₂、A₃、A₄ 处理仍然显著低于 CK($P < 0.05$),生物量分别减少了 39.6%、47.0%和 66.0%。

2.1.2 光合色素含量 在核桃青皮分解到 20 d 时,各处理小白菜的叶绿素 a 含量均已显著低于 CK($P < 0.05$),RI 分别达 -0.175、-0.254、-0.518、-0.533;分解到 75 d 时,各处理与 CK 几乎无明显差异,降低幅度与 20 d 时相比明显减小。各剂量青皮处理对叶绿素 b 含量与类胡萝卜素含量的影响与叶绿素 a 含量相似,即抑制作用也表现为分解前期大于后期(表 2)。

2.2 核桃青皮分解对小白菜叶片 H_2O_2 和 MDA 含量的影响

2.2.1 H_2O_2 含量 在核桃青皮分解到 20 d 时,各处理小白菜的过氧化氢(H_2O_2)含量与 CK 无显著差异(图 1,A);而分解到 45 d 时,随着土壤中青皮添加量的增大,小白菜 H_2O_2 含量呈现先升后降的趋势,A₁ 和 A₂ 处理与 CK 差异不显著,A₃ 和 A₄ 处理显著低于 CK($P < 0.05$);分解到 75 d 时,小白菜 H_2O_2 含量也表现为随着青皮量的增大而减少趋势,A₂ ~ A₄ 处理均显著低于 CK(RI 分别达 -0.167、-0.256、-0.308),而 A₁ 处理与 CK 差异不明显。

2.2.2 MDA 含量 由图 1,B 可知,核桃青皮分解 20 d 和 45 d 时,小白菜丙二醛(MDA)含量在处理间变化不大,仅 A₃ 处理的 MDA 含量在 45 d 时显著低于 CK($P < 0.05$);到分解 75 d 时,各处理小白菜 MDA 含量均显著低于 CK($P < 0.05$)。由此可见,核桃青皮分解并未对小白菜细胞膜造成明显的

表 2 各处理核桃青皮分解初期时小白菜幼苗光合色素含量的变化
Table 2 The photosynthetic pigment contents of *B. rapa* L. var. *chinensis* seedling at early stage of decomposing walnut husk

| 播种后天数 Days after sowing/d | 青皮添加量 The amount of walnut husk/g | 叶绿素 a 含量 Content of chlorophyll a | | 叶绿素 b 含量 Content of chlorophyll b | | 类胡萝卜素含量 Content of carotenoid | |
|------------------------------|--------------------------------------|--|--------------|--|--------------|--|--------------|
| | | 测定值 Observation/(mg · g ⁻¹) | RI | 测定值 Observation/(mg · g ⁻¹) | RI | 测定值 Observation/(mg · g ⁻¹) | RI |
| | | 0(CK) | 0.676±0.048a | — | 0.172±0.076a | — | 0.250±0.108a |
| 20 | 30(A ₁) | 0.558±0.039b | -0.175 | 0.110±0.011ab | -0.362 | 0.161±0.012ab | -0.354 |
| | 60(A ₂) | 0.504±0.050b | -0.254 | 0.098±0.014b | -0.429 | 0.146±0.012b | -0.415 |
| | 120(A ₃) | 0.326±0.004c | -0.518 | 0.060±0.002b | -0.65 | 0.104±0.004b | -0.584 |
| | 180(A ₄) | 0.315±0.009c | -0.533 | 0.055±0.002b | -0.677 | 0.104±0.003b | -0.585 |
| | 75 | 0(CK) | 0.629±0.047a | — | 0.059±0.010a | — | 0.166±0.012a |
| 30(A ₁) | | 0.631±0.035a | 0.002 | 0.074±0.008a | 0.207 | 0.170±0.010a | 0.023 |
| 60(A ₂) | | 0.601±0.042a | -0.044 | 0.032±0.014ab | 0.457 | 0.152±0.011ab | -0.084 |
| 120(A ₃) | | 0.514±0.044b | -0.183 | 0.048±0.003ab | -0.178 | 0.135±0.012b | -0.190 |
| 180(A ₄) | | 0.593±0.013a | -0.058 | 0.020±0.058b | -0.660 | 0.168±0.030a | 0.011 |

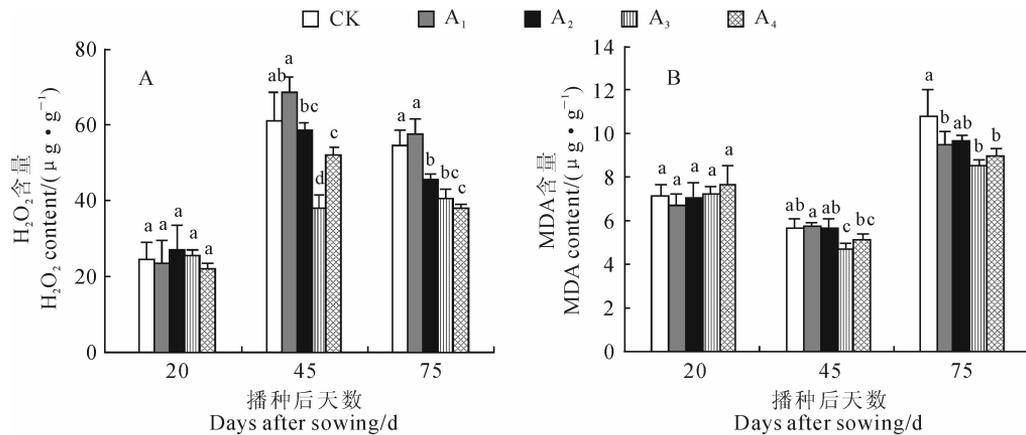


图 1 小白菜经不同核桃青皮含量处理后 H₂O₂(A)和 MDA(B)含量变化比较
同期不同字母表示处理间差异达 0.05 显著水平;下同

Fig. 1 Comparison of different doses of walnut green husk on H₂O₂(A) and MDA(B) contents of *B. rapa* L. var. *chinensis* seedling

Different normal letters for same specific determination stage indicate significant difference among treatments at 0.05 level; The same as below

过氧化伤害。

2.3 核桃青皮分解对小白菜叶片抗氧化酶活性的影响

小白菜叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性在核桃青皮不同分解时期的变化趋势相似,即均表现为随着青皮施入量的增加而逐渐上升(图 2, A);其中, A₁ 处理与 CK 始终差异不显著,而其他剂量的青皮处理几乎均表现为显著高于 CK(P<0.05)。可见,小白菜对核桃青皮分解所诱导的活性氧增加做出了迅速响应,启动了抗氧化保护系统的防御作用,这可能正是上述小白菜叶片中 H₂O₂ 含量未见显著升高的原因。同时,小白菜叶片过氧化物酶(POD)活性

同样在核桃青皮分解过程中有着积极的响应(图 2, B)。其中,小白菜叶片 POD 活性在分解 45 d 时较低,且各剂量处理间无显著差异;而分解 20 d 和 75 d 时,除 A₁ 处理与 CK 差异不显著外,其他青皮处理的小白菜 POD 活性均显著地高于 CK(P<0.05)。此外,与 SOD 和 POD 反应不同,小白菜叶片过氧化氢酶(CAT)似乎并未对核桃青皮分解产生积极的防御作用(图 2, C)。其中,在核桃青皮分解到 20 d 时,各处理 CAT 活性未见显著差异;到分解 45 d 时,小白菜叶片 CAT 活性还随青皮剂量的增大而急剧下降,且各青皮处理与 CK 间差异均达到了显著水平(P<0.05);而分解到第 75 天时,各处

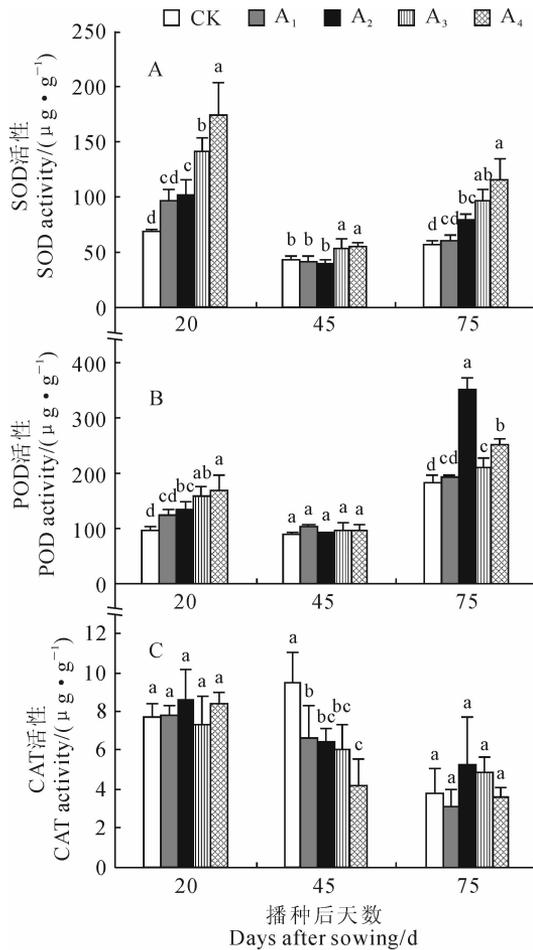


图2 核桃青皮不同处理量对小白菜抗氧化酶活性的影响
Fig. 2 Effects of different doses of walnut green husk on antioxidant enzyme activities of *B. rapa* L. var. *chinensis* 期间 CAT 活性再次无显著差异。

2.4 核桃青皮分解对小白菜叶片渗透调节物质含量的影响

图3,A显示,各青皮处理小白菜可溶性蛋白(SP)含量随着时间的延长而先增后减,均在分解45d时达到最大值。其中,分解到20d时,小白菜SP含量随着核桃青皮添加量的增加而逐渐降低,且均显著低于同期对照,即均受到显著的抑制作用($P < 0.05$);而分解到45d时,各处理小白菜SP含量均比分解20d时大幅增加,但仅A₃处理显著低于同期CK($P < 0.05$);到分解75d时,随青皮剂量的增大,各处理小白菜SP含量又呈下降趋势,且除A₁处理外均与CK差异达到显著水平。同时,各青皮处理小白菜叶片可溶性糖(SS)含量随着时间的延长而先减后增,并均在分解75d时达到最大值(图3,B)。其中,青皮分解20d时,小白菜叶片SS含量的变化规律与SP含量相反,随着青皮含量的增加而呈逐渐上升趋势,但仅A₃和A₄处理与CK差异达

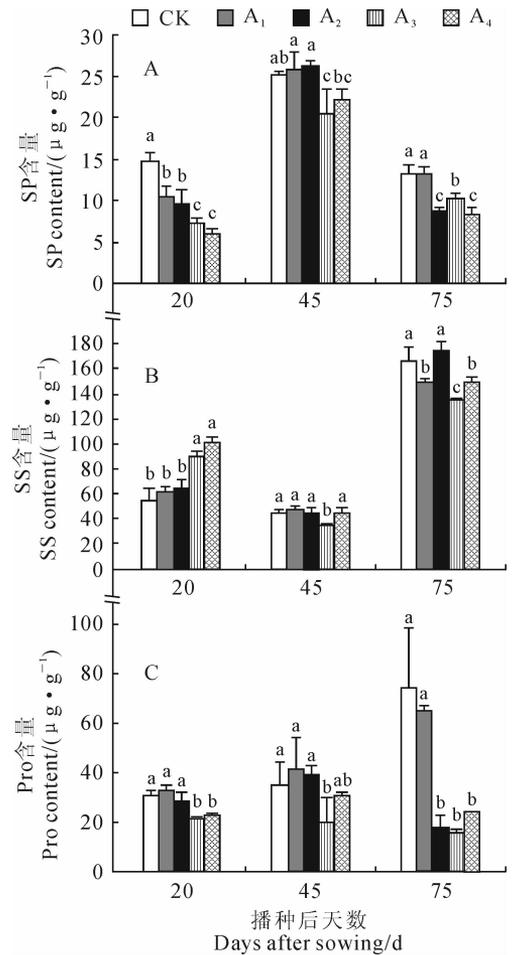


图3 小白菜经不同核桃青皮含量处理后渗透物质含量变化比较

Fig. 3 Comparison of different doses of walnut green husk on osmotic regulation of *B. rapa* L. var. *chinensis* 显著水平;而分解45d和75d时,小白菜叶片SS含量的变化规律又与SP含量相似,各处理间SS含量在分解45d时差异不显著,而在分解75d时表现为随青皮添加量的增加呈下降趋势。另外,于不同青皮分解时期,小白菜游离脯氨酸(Pro)含量总体上受到A₁和A₂处理的影响均不大,而均受到A₃和A₄处理的显著抑制作用($P < 0.05$);A₃处理在3个时期的RI值依次为-0.309、-0.438、-0.793,A₄处理的RI值则分别为-0.263、-0.134、-0.680(图3,C)。以上结果说明,核桃青皮分解会在不同程度上抑制小白菜叶片中渗透调节物质的积累。

3 讨论

3.1 小白菜生物量和光合色素含量对核桃青皮分解物胁迫的响应

有研究表明,核桃青皮中含有的胡桃醌、多酚

类、多糖等化感物质能显著地影响受体植物生长和相关酶促反应、植物呼吸作用、蛋白质和核酸的代谢以及植物对营养和水分的吸收等^[8,10,12,25]。本试验结果显示,核桃青皮在其分解初期对小白菜地上部分鲜重表现为明显的抑制作用,但随着处理时间的延长这种抑制效应逐渐减弱,这与黄建贝等^[26]关于核桃凋落叶分解对小麦化感作用的研究结果一致。核桃青皮分解前期产生的较强抑制效应可能是由于其释放的次生代谢物质等在土壤中快速积累,且受体植物幼嫩、个体小,对化感物质反应敏感;而分解后期随着青皮在土壤中的持续分解,其释放的次生代谢物质逐渐减少,而且释放的养分(多糖类物质)对受体生长起到了促进作用所致。

同时,朱新开等^[27]研究表明,植物叶绿素含量与其净光合速率呈正相关关系。小白菜叶片的叶绿素和类胡萝卜素含量在本研究的各处理阶段均表现为下降趋势,可能是化感物质不仅使光合色素的合成受阻,也可能促进光合色素的降解。其主要原因可能是化感物质胁迫导致叶绿素分解酶活性上升,使叶绿素转化为叶绿素酯和叶绿素醇,因此叶绿素含量降低^[28-29]。小白菜叶绿素含量在高剂量(A₃、A₄)青皮处理下均显著减少,这与吴秀华等^[30]在巨桉(*Eucalyptus grandis*)凋落叶分解对菊苣(*Cichorium intybus*)产生的化感作用的研究结果一致,表明核桃青皮中的化感物质抑制了小白菜叶片光合色素的积累,从而导致其光合效率的降低及后续干物质的积累。

3.2 小白菜叶片抗氧化系统对核桃青皮分解物胁迫的响应

植物处于逆境胁迫下时,其体内过氧化氢(H₂O₂)等活性氧(ROS)含量增加,刺激植物体内抗逆基因表达,植物体内一系列抗氧化保护酶活性被诱导升高,逐步建立起防御系统,当防御系统失效时,ROS所具有的强氧化性可使细胞膜过氧化产生丙二醛(MDA)^[31-32]。本研究发现,在核桃青皮分解初期,尽管小白菜体内的过氧化氢酶(CAT)并没有起到良好的防御作用,但其超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性表现出不同程度的增强,这可能正是各青皮处理下小白菜 H₂O₂ 含量和 MDA 含量均未出现显著上升的原因。核桃青皮在分解过程中并未对小白菜叶片细胞膜造成明显的过氧化伤害,因此膜质过氧化伤害可能并不是小白菜生长受到抑制的主要原因。Chen 等^[33]的研究显示,蓝桉(*Eucalyptus maidenii*)凋落叶处理后的菠菜发育

加快,并认为这与活性氧增多和较高的 MDA 含量有关。本研究结果与之不同,在核桃青皮分解到 75 d 时,经高剂量(A₃ 和 A₄)青皮处理的小白菜体内 MDA 和 H₂O₂ 含量甚至显著下降,这可能是因为供体材料不同,所含化感物质不同,因而对受体植物化感作用效果不一致。李海洋等^[34]发现,核桃青皮中的多糖物质主要是通过激活免疫细胞,促进细胞因子生成等途径对免疫系统发挥调节作用。从本研究中高剂量青皮处理小白菜叶片 SOD 和 POD 活性显著增加的结果可以看出,受体启动的抗氧化保护系统在分解 75 d 时仍然发挥着良好的清除自由基的功能,所以此时高剂量青皮处理小白菜 MDA 和 H₂O₂ 含量表现出显著下降趋势。

3.3 小白菜叶片渗透调节物质含量对核桃青皮分解物胁迫的响应

在逆境胁迫下,植物细胞内会积累一些渗透调节物质来调节细胞内的渗透势,维持水分平衡,同时还可以保护细胞内代谢活动所需的酶类。可溶性糖(SS)、可溶性蛋白(SP)和脯氨酸(Pro)是植物体内重要的渗透调节物质,水分胁迫、盐胁迫、冷胁迫等不良环境都会使植物体内 SS 和 Pro 含量发生很大的变化^[35]。尤其是当植物受到渗透胁迫造成生理缺水时,其体内 Pro 大量积累。因此,Pro 含量在一定程度上反映了植株体内的水分状况^[36-37]。本研究中发现,在核桃青皮分解初期,随着添加量的增加,小白菜叶片 Pro 含量无显著变化(A₁、A₂)或显著下降(A₃、A₄),表明核桃青皮在分解过程中没有导致小白菜遭受水分胁迫,这与陈洪等^[38]关于巨桉凋落叶分解的化感效应所提出的观点不同。Anaya^[39]发现化感物质会干扰植物对矿质元素的吸收,破坏营养吸收过程中的络合作用,使养分无法透过膜系统;陈洪等^[38]认为化感物质会妨碍了老芒麦(*Elymus sibiricus*)根系对矿质离子如 P、S、Fe 的吸收,导致蛋白质合成受阻;宋敏等^[40]也发现外源脯氨酸与 Cu、Cd 和 Zn 的吸收具有一定负相关性。本研究中,在核桃青皮处理 75 d 时,小白菜叶片 SS、SP 和 Pro 含量降低,这也可能是由于化感物质的胁迫抑制了小白菜根系对矿质元素吸收,使其营养物质合成受阻,从而抑制其生长。

总之,经核桃青皮处理,小白菜幼苗生理指标在时间上的变化规律与 CK 不一致,这也从另一层面表明核桃青皮进入土壤后影响了小白菜的正常生理代谢。在核桃青皮分解初期,小白菜幼苗正常的生理代谢受到较大干扰,叶绿素含量下降,虽然其内部

抗性生理在一定的处理时间范围内能做出积极的响应(SOD、POD等),但小白菜叶片细胞仍遭受了较严重的损害,小白菜体内营养物质合成受阻,继而其生长受到了明显的抑制。因此,在生产实践中,建议

对核桃青皮进行科学管理,如进行较长时间的集中堆沤,之后与其他厩肥混合施用,以免影响间作或套作作物的生长。

参考文献:

- [1] QIN SH G(秦树高),WU B(吴斌),ZHANG Y Q(张宇清). A review of belowground interspecific interactions and allelopathy in silvo-pasture systems[J]. *Acta Prataculturae Sinica*(草业学报),2011,(4):253-261(in Chinese).
- [2] REN H(任海),DAANE J,PENG SH L(彭少麟). Ecosystem of savanna in Africa[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*(热带亚热带植物学报),2002,**10**(4):381-390(in Chinese).
- [3] CHENG P(程鹏),CAO F L(曹福亮),WANG G B(汪贵斌). The progress of study on agroforestry[J]. *Journal of Nanjing Forestry University*(Nat. Sci. Edi.)(南京林业大学学报·自然科学版),2010,**34**(3):151-156(in Chinese).
- [4] BUSTO M D,PEREZ M. Characterization of Betad-glucosidase extracted from soil fractions[J]. *European Journal of Soil Science*,2000,51:193-200.
- [5] ZHAI M ZH(翟梅枝),LI P Y(李鹏影),HUANG H L(黄海玲). Effects of bioactive constituent P₄₋₂ in green walnut fruit peel on physiological and biochemical indices in tobacco[J]. *Journal of Northwest Forestry University*(西北林学院学报),2009,**24**(4):143-146(in Chinese).
- [6] SUO X B(索绪斌),GAO K B(高奎滨),ZHANG Y L(张云凌). High performance liquid chromatography determination of walnut juglone content in walnut green husk[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*(中药材),2003,11:793(in Chinese).
- [7] SUN G R(孙广仁),YAO D D(姚大地),YOU SH J(由士江). Inhibition effect of green walnut peel on several human pathogenic bacteria[J]. *Journal of Northeast Forestry University*(东北林业大学学报),2009,**37**(1):92-93(in Chinese).
- [8] SHAROKH B,HASSAN A,ALI K. Various antioxidative activities of Iranian walnut green husks hydroalcoholic extract and its effects on LDL oxidation[J]. *Journal of Biologically Active Products from Nature*,2012,**6**(2):330-340.
- [9] ALI A,TARIQUE N,GOWHAR S. Validation of the antiproliferative effects of organic extracts from the green husk of *Juglans regia*. L. on PC-3 human prostate cancer cells by assessment of apoptosis-related genes[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume*,2012,**10**(28):1-8.
- [10] BIE ZH X(别智鑫),ZHAI M ZH(翟梅枝),HE L H(贺立虎),*et al.* The allelopathy of hydrous extracts of walnut green husk on wheat and clover seedlings[J]. *Journal of Northwest Forestry University*(西北林学院学报),2007,**22**(6):108-110(in Chinese).
- [11] ZHAO C X(赵彩霞),ZHAI M ZH(翟梅枝),WANG W(王伟). The allelopathy of walnut green husk[I]:Effects of the secondary substances on the growth of the seedlings[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*(西北农业学报),2005,**14**(6):121-124(in Chinese).
- [12] ZHAI M ZH(翟梅枝),ZHU T H(朱天慧),JIA C X(贾彩霞). Effects of low polar fractions from walnut green husk on the growth of seedlings[J]. *Journal of Northwest Forestry University*(西北林学院学报),2009,**24**(4):156-159(in Chinese).
- [13] HA S Y T(哈斯亚提·托逊江),LIU CH(刘晨),HA L D(哈丽代·热合木江). Effect of intercropping sudan grass in fruit trees on herbage yield and soil moisture counted[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*(新疆农业科学),2013,**50**(12):2241-2245(in Chinese).
- [14] ZHAO ZH B(赵志斌). Intercropping is an effective measure to improve the efficiency of the walnut fine garden[J]. *Beijing Agriculture*(北京农业),2013,(10):1-2(in Chinese).
- [15] GUO H X(郭怀鑫),YANG X M(杨学民),WANG Q(王青). On cultivation of Konjac under plantations of walnut and chestnut[J]. *Shaanxi Forest Science and Technology*(陕西林业科技),2013,(5):66-68(in Chinese).
- [16] WANG P(王朋),WANG Y(王莹),KONG CH H(孔垂华). Allelopathy of plant volatile monoterpenes mediated by soil: a case study of *Ambrosia trifida* L. [J]. *Acta Ecologica Sinica*(生态学报),2008,(6):62-68(in Chinese).
- [17] WANG Q. Allelopathic activity and chemical constituents of walnut (*Juglans regia*) leaf litter in walnut-winter vegetable agroforestry system[J/OL]. [2014-6-6]. <http://www.tandfonline.com/loi/gnpl>.
- [18] GIANNOPOLITIS C,ROES S. Superoxide dismutases I. occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiology*,1977,59:309-314.
- [19] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都:四川科学技术出版社,2003:124-126.
- [20] 赵世杰,史国安,董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2002:214-219.

- [21] ZHI M X(职明星), LI X J(李秀菊). Improvement of the method for measuring proline content[J]. *Journal of Henan Institute of Science and Technology*(Nat. Sci. Edi.) (河南科技学院学报·自然科学版), 2005, **33**(4): 9-12(in Chinese).
- [22] LÜ B(吕波), LIU J(刘俊), XU L L(徐朗莱). Study on three methods of determining contents of H₂O₂ in wheat leaves[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*(南京农业大学学报), 2000, **23**(2): 101-104(in Chinese).
- [23] LIU Y W(刘洋文). Study on rapid determination of chlorophyll content of leaves[J]. *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory*(光谱实验室), 2002, **19**(4): 478-481(in Chinese).
- [24] WILLIAMSON G B, RICH A D. Bioassays for allelopathy; measuring treatment responses with independent controls[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1998, **14**(1): 181-182.
- [25] 孔垂华, 胡飞. 植物化感(相生相克)作用及其应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 164, 160.
- [26] 黄建贝, 胡庭兴, 吴张磊, 等. 核桃凋落叶分解对小麦生长及生理特性的影响[J/OL]. [2014-03-18]. <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.5846/stxb.201303070363.html>.
- [27] ZHU X K(朱新开), SHENG H J(盛海军), GU J(顾镜), et al. Primary study on application of SPAD value to estimate chlorophyll and nitrogen content in wheat leaves[J]. *Acta Tritical Crops*(麦类作物学报), 2005, **2**(25): 46-50(in Chinese).
- [28] LI Y H, HONG J, XIE L, et al. Effects of broad bean wilt virus 2 isolate infection on photosynthetic activities and chloroplast ultrastructure in broad bean leaves[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, **32**(4): 490-496.
- [29] YANG ZH X(杨志晓), DING Y F(丁燕芳), ZHANG X Q(张小全), et al. Impacts of *Alternaria alternata* stress on characteristics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence in two tobacco cultivars with different resistances[J]. *Acta Ecologica Sinica*(生态学报), 2014, **6**(12): 1-12(in Chinese).
- [30] WU X H(吴秀华), HU T X(胡庭兴), YANG W Q(杨万勤), et al. Effects of *Eucalyptus grandis* leaf litter at its early stage of decomposition on the growth and photosynthetic characteristics of *Cichorium intybus*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2012, **23**(1): 1-8(in Chinese).
- [31] LI K(李坤), GUO X W(郭修武), GUO Y SH(郭印山), et al. Allelopathy of grape root aqueous extracts[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2010, **21**(7): 1 779-1 784(in Chinese).
- [32] ZHANG R M(张汝民), WANG Y ZH(王玉芝), HOU P(侯平), et al. Physiological responses to allelopathy of aquatic stem and leaf extract of *Artemisia frigida* in seedling of several pasture plants[J]. *Acta Ecologica Sinica*(生态学报), 2010, **30**(8): 2 191-2 204(in Chinese).
- [33] CHEN H, HU T X, WU X H, et al. Decomposition of blue gum(*Eucalyptus maidenii*) leaf litter may accelerate the maturation and senescence of spinach(*Spinacia oleracea*) [J]. *African Journal of Agricultural Research*, 2013, **25**(2): 532-540.
- [34] LI Y Y(李海洋), HAN J Q(韩军岐), LI ZH X(李志西). Extraction and separation of the effective chemical composition of walnut green husk[J]. *Xiandai Horticulture*(现代园艺), 2012, (15): 9-10(in Chinese).
- [35] 李合生. 现代植物生理学(第2版). 北京: 高等教育出版社, 2006: 333-375.
- [36] GAO Y ZH(高英志), WANG Y H(王艳华), WANG J T(王静婷), et al. Research advances in the responses of carbohydrates in grassland plants to environmental stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2009, **20**(11): 2 827-2 831(in Chinese).
- [37] CHEN SH L(陈绍莉), ZHOU B L(周宝利), LIN SH SH(蔺姗姗), et al. Effects of cinnamic acid and vanillin on grafted eggplant root growth and physiological characteristics[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2010, **21**(6): 1 446-1 452(in Chinese).
- [38] CHEN H(陈洪), HU T X(胡庭兴), YANG W Q(杨万勤), et al. Effects of *Eucalyptus grandis* leaf litter on growth and resistance physiology of *Elymus sibiricus* in the initial decomposition process of litter in soil[J]. *Acta Prataculturae Sinica*(草业学报), 2011, (10): 57-65(in Chinese).
- [39] ANAYA A L, HERNANDEZ B B E, TORRES B A, et al. Phytotoxicity of cacalol and some derivatives obtained from the roots of *Psacalium decompositum*[J]. *Matarique or Maturin. Journal of Chemical Ecology*, 1996, **22**(3): 393-403.
- [40] SONG M(宋敏), XU W J(徐文竟), PENG X Y(彭向永), et al. Effects of exogenous proline on the growth of wheat seedlings under cadmium stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2013, **24**(1): 129-134(in Chinese).