

油菜生长过程对核桃凋落叶化感作用的响应

张如义<sup>1</sup>,熊朝勇<sup>2</sup>,王仕林<sup>1\*</sup>,周海燕<sup>1</sup>,唐 辉<sup>1</sup>,汪仁全<sup>1</sup>,李 明<sup>1</sup>

(1.四川省内江市农业科学院,四川 内江 641000;2.内江职业技术学院,四川 内江 641000)

**摘 要:**为研究农作物白菜型油菜生长过程对核桃凋落叶化感作用的生理响应,采用盆栽试验,通过设置空白对照 CK(不添加凋落叶)和 3 个凋落叶添加剂量水平:L<sub>60</sub>(60 g·盆<sup>-1</sup>)、L<sub>120</sub>(120 g·盆<sup>-1</sup>)和 L<sub>180</sub>(180 g·盆<sup>-1</sup>),测定盆栽油菜生长中后期的营养生长、生殖生长及生理响应相关指标。结果表明:1)核桃凋落叶分解对油菜中期营养生长(地径、株高)有显著抑制,在后期得到明显减弱,可仍对后期油菜生殖生长(开花性状、结实性状和产量)产生抑制影响;但这种抑制效应不会影响油菜结实种子的萌发。2)油菜生长中期(100 d),随核桃凋落叶剂量增大,油菜叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性逐步增强,过氧化物酶(POD)活性无显著变化;丙二醛(MDA)含量仅在 L<sub>180</sub> 处理下显著>CK( $P<0.05$ ),可溶性糖(SS)含量逐步增加,而可溶性蛋白(SP)含量呈逐步下降;到油菜生长后期(140 d)时,各处理下油菜 POD、CAT 的活性和 SS、SP 的含量均逐步下降,MDA 含量均显著<CK( $P<0.05$ )。3)各核桃凋落叶处理对油菜叶片各类叶绿素均有明显抑制作用,随凋落叶添加量增加,油菜叶片净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度( $C_i$ )呈先降后增的趋势。综上所述,核桃凋落叶经土壤分解对油菜中后期生长造成强烈的化感胁迫,其主要通过对油菜的细胞膜造成过氧化伤害,使叶绿素合成受到抑制,光合作用受到影响,进而妨碍其生长及产量品质的形成。

**关键词:**核桃凋落叶;分解;生殖生长;化感作用;油菜

中图分类号:S718.5      文献标志码:A      文章编号:1001-7461(2020)05-0126-08

Responses of Physiological Process of Rape to the Allelopathy of Walnut Leaf Litters

ZHANG Ru-yi<sup>1</sup>,XIONG Chao-yong<sup>2</sup>,WANG Shi-lin<sup>1\*</sup>,ZHOU Hai-yan<sup>1</sup>,TANG Hui<sup>1</sup>,  
WANG Ren-quan<sup>1</sup>,Li Ming<sup>1</sup>

(1. Sichuan Neijiang Academy of Agricultural Sciences, Neijiang, Sichuan 641000, China;  
2. Neijiang Vocational and Technical College, Neijiang, Sichuan 641000, China)

**Abstract:** In order to study the physiological response of the growth process of cabbage rape (*Brassica rapa*) to the allelopathy of walnut (*Juglans regia*) leaf litters, a pot experiment was carried out by adding walnut leaf litter with different dosages: 0, 60, 120, and 180 g per pot (represented by the control, L<sub>60</sub>, L<sub>120</sub>, and L<sub>180</sub>), respectively. The results indicated that 1) the decomposition of walnut leaf litters significantly inhibited the vegetative growth of *B. rapa* seedlings, such as plant height and ground diameter, and reproductive growth, such as flowering and fruiting, in the middle and late growth stages of rapeseed. But this inhibiting effect would not be inherited to the second generation of rapeseed. 2) At the middle stage of rapeseed growth (100 days), with the increase of walnut litter dose, the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in rape leaves increased gradually. The content of malondialdehyde (MDA)

收稿日期:2019-11-28    修回日期:2020-04-12  
基金项目:国家“十二五”科技支撑计划(2011BAC09B05);四川省科技计划项目(2020JDRC0144,2020JDRC177);内江市科技计划资助项目(2019KJFH017)。  
作者简介:张如义。研究方向:农林遗传育种。E-mail:847408099@qq.com  
\*通信作者:王仕林,高级农艺师。研究方向:农作物遗传育种。E-mail:443033045@qq.com

was significantly higher than that of the control only under  $L_{180}$  treatment, while the content of soluble sugar (SS) increased gradually, while the content of soluble protein (SP) decreased gradually. At the late stage of rapeseed growth (140 days), POD, CAT, SS and SP of rapeseed decreased gradually in all treatments, and MDA content was significantly lower than the control. 3) The treatment of walnut leaf litters obviously inhibited all kinds of chlorophylls in rape leaves. The net photosynthetic rate ( $P_n$ ), stomatal conductance ( $G_s$ ) and intercellular  $CO_2$  concentration ( $C_i$ ) of rape leaves decreased first and then increased with the increase of litter addition. In summary, the withered leaves of walnut caused strong allelopathy stress to the growth of rape in the middle and late growth stages through soil decomposition, which mainly caused peroxidation damage to the cell membrane of rape, so that its chlorophyll synthesis was inhibited, its photosynthetic capacity was affected, and then hindered its growth, yield and quality formation.

**Key words:** *Juglans regia* leaf litter; allelopathy; decompose; reproductive growth; *Brassica rapa*

化感作用(allelopathy)也被称为异株克生或相克相生,其产生的化学物质被称为化感物质(allelochemicals)<sup>[1]</sup>,化感作用在自然界中普遍存在,对农林业和自然生态系统有着重要影响,特别在农作物产出、群落演替和生物入侵等方面发挥重要作用<sup>[2]</sup>,核桃(*Juglans regia*)是胡桃科(Juglandaceae)核桃属(*Juglans*)的多年生落叶乔木,第三纪孑遗物种<sup>[3]</sup>,其人工栽培历史悠久,分布广泛,是我国优良的油料、干果、用材和绿化等多用途树种<sup>[4]</sup>。据统计,当前我国核桃的种植面积和产量均位于世界第一,长江中上游地区核桃人工林面积得到进一步扩大。研究表明,果林套种经济作物可以充分利用土地、光热和水肥资源,达到改善土壤肥力,带来良好的生态、经济和社会效益<sup>[5]</sup>,因此,核桃林下复合种植模式受到广泛关注,但核桃作为最早被印证具有强烈化感作用的植物之一<sup>[6]</sup>,有研究发现其枝条、叶片、果皮均有明显的化感作用<sup>[7-8]</sup>,S. Nesrine *et al*<sup>[9]</sup>研究发现核桃叶中提取的胡桃醌对一些植物的生长表现出强烈的抑制现象,因此,核桃经济林大面积发展有可能诱发的生态环境负效应值得进一步关注及研究。

叶片作为植物化感物质最为聚集的器官之一<sup>[10-11]</sup>,已是开展植物残株化感物质研究的首选供体材料之一,目前大量研究发现核桃的凋落叶经土壤分解会产生大量化感物质,对小麦、莴笋等农作物的生长、生理特性有明显抑制效应<sup>[12-13]</sup>。而对农作物而言,中后期开花、结实等生理过程直接关系到作物产量高低和品质优劣,但当前核桃凋落叶化感研究多仅局限于受体植物前期营养生长的响应,对后期的生殖生长及相关生理响应过程探讨较少。因此,本研究以白菜型油菜(*Brassica rapa*)为受体植物,采用盆栽试验的方法,模拟自然条件下核桃凋落叶经土壤分解释放化感物质的过程对油菜中后期营养生长、开花、结实等生理过程乃至结实种子萌发的

影响,以期探究核桃凋落叶化感作用影响受体植物生长、产量的内在作用机理,为核桃农林复合模式科学经管和健康发展提供相应的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

2017年10月在四川省内江市市中区20年生核桃林下收集自然凋落、干净、未分解的核桃凋落叶,收回后将其自然风干,剪成长、宽均1~2 cm碎片,以利于和土壤充分混匀,贮存备用。受体材料选择四川本时间段广泛种植的白菜型油菜,种子由四川省内江市农业科学院油菜研究所提供,选择色泽饱满、大小均匀的种粒。采用聚乙烯塑料盆(口径28 cm,底径17 cm,盆高25 cm)作为容器,盆栽土壤选择本地农田沙壤土(pH 7.24,有机质22.21 g·kg<sup>-1</sup>,全N 0.78 g·kg<sup>-1</sup>,全P 7.02 g·kg<sup>-1</sup>,全K 6.11 g·kg<sup>-1</sup>,速效P 11.23 mg·kg<sup>-1</sup>,速效K 16.47 mg·kg<sup>-1</sup>),预先除杂、过筛,平铺自然风干后,定量装盆,每盆盛土10 kg。

### 1.2 试验设计

2017年11月—2018年5月在四川省内江市农业科学院农业示范园的塑料大棚中开展试验,该大棚四面透气通风,除遮挡雨水外,和外界环境相比没有明显差异。参照丁伟等<sup>[12]</sup>和黄建贝等<sup>[13]</sup>的试验设计,前期实地调测该核桃林叶片年凋落量约9 000 kg·hm<sup>-2</sup>,换算到试验塑料盆盆口(面积约0.06 m<sup>2</sup>)的凋落叶添加量约60 g,故以60 g·盆<sup>-1</sup>作为基本施入量。由于不同核桃林分条件差异和外界因素的影响,不同区域上叶片凋落量分布并不均匀,因此,设置4个凋落叶不同水平添加量处理分别为60、120、180 g·盆<sup>-1</sup>(分别记作 $L_{60}$ 、 $L_{120}$ 和 $L_{180}$ )和1个空白对照(CK),每个处理5次重复,共计20盆。试验于2017年11月5日开始,将预先称量好的凋落叶碎片与土壤混合均匀装盆后,将处理好的

油菜种子均匀点播到盆中,每盆 20 粒,浇透水,待出苗后及时间苗,保证每盆种植密度一致。

在核桃凋落叶分解至 100、140 d 时,测量油菜生长指标(株高、地径)和选取相同位置成熟叶片测定光合色素含量、抗性生理指标(抗氧化酶活性、丙二醛)及渗透调节物质含量,并在 100 d 时选择晴天进行油菜叶片净光合速率、气体交换参数测定。为密切跟踪、记录油菜生殖生长和开花结实状况,当油菜现蕾后,立即挂牌、编号(随机每盆选 5 棵),并在油菜的盛花期(120 d)和盛果期(160 d)分别完成单株主花序长度、花序数、花粉数、花粉活力和有效角果总数、角粒数等生殖生长指标测定。为保证油菜可以正常生殖生长和开花结实,最终匀苗到每盆各剩 2 株留种,于 4 月底收获油菜种子,待风干后及时测定种子千粒重和计算单株产量,同时开展油菜结实种子的萌发试验。

1.3 测定内容与方法

1.3.1 生长指标测定 采用直尺测量油菜株高;用电子游标卡尺测量油菜地径(地表处的茎粗)。油菜花粉活力测定运用氯化三苯基四氮唑法(TTC 法)<sup>[14]</sup>,花粉数量测定采用纤维素酶法<sup>[14]</sup>,单株有效角果数以各处理的单株饱满结实无空砣的果荚数目为准,用精度为 0.000 1 g 的天平称测量油菜种子千粒重。

1.3.2 生理指标测定 活性氧代谢相关指标:采用氮蓝四唑法测定植物叶片超氧化物歧化酶(SOD)的活性<sup>[14]</sup>,参照愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性<sup>[15]</sup>;利用紫外分光光度法测定过氧化氢酶(CAT)活性<sup>[15]</sup>,采用硫代巴比妥酸加热显色法测定丙二醛(MDA)含量<sup>[15]</sup>。

渗透调节物质相关指标:可溶性糖(SS)含量采用硫代巴比妥酸加热显色法测定<sup>[15]</sup>,可溶性蛋白(SP)含量采用考马斯亮蓝 G250 法测定<sup>[15]</sup>。

光合生理相关指标:先用“丙酮-乙醇混合液提取法”提取叶片叶绿体色素,再测定油菜叶片的叶绿

素 a(Chl a)、叶绿素 b(Chl b)和类胡萝卜素(Car)含量<sup>[16]</sup>;通过 Li-6400 便携式光合测定仪(Li-Cor Inc.,USA),人工控制 CO<sub>2</sub> 浓度为 400 μmol·mol<sup>-1</sup>、光照强度为 1 200 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>、温度为 25℃,选取各处理油菜同一位置成熟功能叶片,测定叶片净光合速率(*P<sub>n</sub>*)、气孔导度(*G<sub>s</sub>*)、胞间 CO<sub>2</sub> 浓度(*C<sub>i</sub>*)和蒸腾速率(*T<sub>r</sub>*),每处理 5 次重复,每重复记录 10 个数据。

1.3.3 结实种子萌发试验 采用培养皿滤纸法,随机选择 50 粒收获的油菜种子均匀放置在铺有双层滤纸的培养皿中,加入适量蒸馏水,每个处理 3 次重复,摆放在恒温光照培养箱(25℃),每天观察记录各处理的发芽种子数(以胚根突破种皮为准),7 d 后计算发芽率、发芽势及发芽指数。CK、L<sub>60</sub>、L<sub>120</sub> 和 L<sub>180</sub> 处理下的油菜子代种子(收获油菜盆栽试验的种子)分别记作 Z<sub>CK</sub>、ZL<sub>60</sub>、ZL<sub>120</sub> 和 ZL<sub>180</sub>。

1.5 数据处理

运用 SPSS17.0 统计分析软件(SPSS Inc, USA)对本试验数据开展单因素方差分析(One-way ANOVA)并使用 Sigma plot 10.0 绘图,Excel 2007 制表。

2 结果与分析

2.1 油菜中后期营养生长对核桃凋落叶分解的响应

在油菜生长中期(100 d),株高和地径生长明显受到核桃凋落叶分解的抑制作用(表 1),L<sub>60</sub>、L<sub>120</sub> 和 L<sub>180</sub> 3 个处理下株高、地径均显著<CK(*P*<0.05),其降幅分别达 16.91%、31.19%、39.94% 和 17.02%、35.35%、41.09%。随着核桃凋落叶在土壤中分解时间的延长,对油菜生长的抑制效应逐步减弱,到油菜生长后期时(140 d),各剂量核桃凋落叶处理的油菜株高、地径与 CK 间均无显著差异(*P*>0.05),甚至 L<sub>60</sub> 处理下油菜株高>CK,表现出促进效应。

表 1 不同添加量核桃凋落叶对油菜株高、地径的影响

Table 1 Effects of different treatments of walnut leaf litter on plant height and ground diameter of rape

处理	株高/cm		地径/mm	
	100 d	140 d	100 d	140 d
CK	83.13±4.20a	121.73±4.87a	9.93±0.47a	14.57±0.59a
L <sub>60</sub>	69.07±4.09b	122.53±3.85a	8.24±0.62b	14.53±0.79a
L <sub>120</sub>	57.20±1.98c	121.20±3.53a	6.42±0.26c	13.63±0.56a
L <sub>180</sub>	49.93±3.22c	113.13±2.80a	5.85±0.51c	13.20±0.75a

注:平均值±标准差(*n*=5),同列不同小写英文字母表示差异显著。表中所列时间为处理天数(播种后天数),下同。

2.2 油菜生殖生长对核桃凋落叶分解的响应

2.2.1 开花性状 由表 2 可知,核桃凋落叶各添加量处理对油菜的开花性状均有明显抑制作用,主要

表现在油菜单株总花序数和主花序长度的减少,L<sub>60</sub>、L<sub>120</sub> 和 L<sub>180</sub> 处理的单株总花序数和主花序长度均显著<CK(*P*<0.05),比CK分别降低了 32.92%、

表 2 不同添加量核桃凋落叶对油菜开花性状的影响

Table 2 Effects of different treatments of walnut leaf litter on blossom characters of rape				
处理	单株主花序长度/cm	单株总花序数	单花花粉数/ $\times 10^5$	花粉活力/%
CK	21.73 $\pm$ 3.36a	11.33 $\pm$ 0.81a	1.98 $\pm$ 0.15a	96.98 $\pm$ 0.76a
L <sub>60</sub>	13.33 $\pm$ 2.93b	7.60 $\pm$ 0.88b	2.02 $\pm$ 0.08a	97.55 $\pm$ 0.68a
L <sub>120</sub>	5.67 $\pm$ 1.45c	5.67 $\pm$ 0.62b	2.20 $\pm$ 0.12a	97.94 $\pm$ 0.44a
L <sub>180</sub>	5.53 $\pm$ 1.28c	6.60 $\pm$ 0.89b	2.57 $\pm$ 0.34a	94.95 $\pm$ 1.91a

49.96%、41.75%和 38.66%、73.91%、74.55%。而油菜的单花花粉数量和花粉活力在各添加量核桃凋落叶处理下无显著差异( $P>0.05$ ),表明核桃凋落叶分解对油菜单株总花序数和主花序长度有明显抑制作用,而对单花花粉数量和花粉活力的影响不明显。

2.2.2 结实性状和产量 由表 3 可见,核桃凋落叶分解对油菜的单株有效角果总数、单株果实总重均表现出明显的抑制作用,在 L<sub>120</sub>、L<sub>180</sub> 处理下显著 $<CK(P<0.05)$ ,分别减少 42.45%、48.38% 和

51.91%、59.59%。而平均角果长和角粒数在各剂量凋落叶处理间差异不明显,同时,核桃凋落叶分解对油菜种子的千粒重和单株产量均表现出明显抑制,且随凋落叶剂量的增加而增强。千粒重和单株产量在 L<sub>60</sub>, L<sub>120</sub> 和 L<sub>180</sub> 处理下较 CK 分别减少 11.61%、12.70%、19.52% 和 11.68%、46.23%、58.39%。综上,核桃凋落叶分解对油菜产量的不良影响主要表现在果实数量、单果重量和千粒重减少上,而角粒数和平均角果长所受影响相对较小。

表 3 不同添加量核桃凋落叶对油菜结实性状和产量的影响

Table 3 Effects of different treatments of walnut leaf litter on bearing characters and yield of rape						
处理	单株有效角果总数	单株果实总重/g	平均角果长/cm	角粒数	千粒重/g	单株产量/g
CK	225.70 $\pm$ 16.58a	47.24 $\pm$ 2.63a	6.32 $\pm$ 0.39ab	21.74 $\pm$ 1.16a	2.464 $\pm$ 0.056a	12.33 $\pm$ 1.32a
L <sub>60</sub>	231.40 $\pm$ 19.00a	38.27 $\pm$ 3.52b	5.96 $\pm$ 0.30b	21.92 $\pm$ 1.34a	2.178 $\pm$ 0.055b	10.89 $\pm$ 1.04a
L <sub>120</sub>	129.90 $\pm$ 13.52b	22.72 $\pm$ 2.81c	6.52 $\pm$ 0.42ab	23.44 $\pm$ 1.45a	2.151 $\pm$ 0.028b	6.63 $\pm$ 0.90b
L <sub>180</sub>	116.50 $\pm$ 11.23b	19.09 $\pm$ 1.27c	7.07 $\pm$ 0.36a	22.31 $\pm$ 1.08a	1.983 $\pm$ 0.297c	5.13 $\pm$ 0.54b

2.3 油菜中后期光合生理对核桃凋落叶分解的响应

2.3.1 对叶绿体色素含量影响 由表 4 可知,在油菜生长中期(100 d),随着核桃凋落叶添加含量的增加,油菜的叶绿素 a(Chl a)、叶绿素 b(Chl b)、叶绿素总量(Chl(a+b))和类胡萝卜素(Car)含量均显著降低( $P<0.05$ ),而随着凋落叶分解时间的延长,降幅逐渐缩小,到生长后期(140 d),在 L<sub>60</sub> 和 L<sub>120</sub> 处理下各类色素含量均显著 $>CK(P<0.05)$ ,而 Chl a、Chl b、Chl(a+b)和 Car 含量仅在 L<sub>180</sub> 处理下一直显著 $<CK(P<0.05)$ ;可见,在油菜生长中期(100 d),核桃凋落叶分解过程对油菜叶片中各类叶

绿体色素含量均有抑制作用,且随核桃凋落叶剂量增加,抑制作用越强,但随凋落叶分解时间的延长,到油菜生长后期(140 d),这种抑制作用逐渐减弱,仅在 L<sub>180</sub> 处理下达到显著。

2.3.2 对净光合速率及气体交换参数影响 由表 5 可知,在油菜生长后期(140 d),随着核桃凋落叶添加量的增加,油菜叶片  $P_n$  及  $G_s$  总体呈逐渐上升的趋势;且在 L<sub>120</sub> 和 L<sub>180</sub> 处理下均显著 $>CK(P<0.05)$ ,L<sub>60</sub>、L<sub>120</sub> 和 L<sub>180</sub> 处理下油菜叶片的  $C_i$  分别比 CK 减少 10.62%、4.19%、6.28%,而此时  $T_r$  在各凋落叶量处理下并无明显规律性变化。

表 4 不同添加量核桃凋落叶对油菜叶绿体色素含量的影响

Table 4 Effects of different treatments of walnut leaf litter on pigment of rape						(mg · g <sup>-1</sup> )
播种后天数/d	处理	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素总量	类胡萝卜素	
100	CK	0.876 $\pm$ 0.016a	0.188 $\pm$ 0.006a	1.064 $\pm$ 0.022a	0.257 $\pm$ 0.004a	
	L <sub>60</sub>	0.772 $\pm$ 0.010bc	0.161 $\pm$ 0.003b	0.933 $\pm$ 0.013bc	0.227 $\pm$ 0.004b	
	L <sub>120</sub>	0.797 $\pm$ 0.007b	0.165 $\pm$ 0.003b	0.962 $\pm$ 0.010b	0.224 $\pm$ 0.002b	
	L <sub>180</sub>	0.732 $\pm$ 0.024c	0.158 $\pm$ 0.006b	0.890 $\pm$ 0.053c	0.225 $\pm$ 0.007b	
140	CK	0.314 $\pm$ 0.018a	0.300 $\pm$ 0.018a	0.614 $\pm$ 0.036a	0.385 $\pm$ 0.015a	
	L <sub>60</sub>	0.330 $\pm$ 0.003a	0.322 $\pm$ 0.003a	0.652 $\pm$ 0.005a	0.379 $\pm$ 0.003a	
	L <sub>120</sub>	0.341 $\pm$ 0.007a	0.329 $\pm$ 0.005a	0.670 $\pm$ 0.012a	0.393 $\pm$ 0.008a	
	L <sub>180</sub>	0.247 $\pm$ 0.003b	0.237 $\pm$ 0.002b	0.484 $\pm$ 0.004b	0.285 $\pm$ 0.004b	



表 5 核桃凋落叶分解对油菜净光合速率及气体交换参数的影响

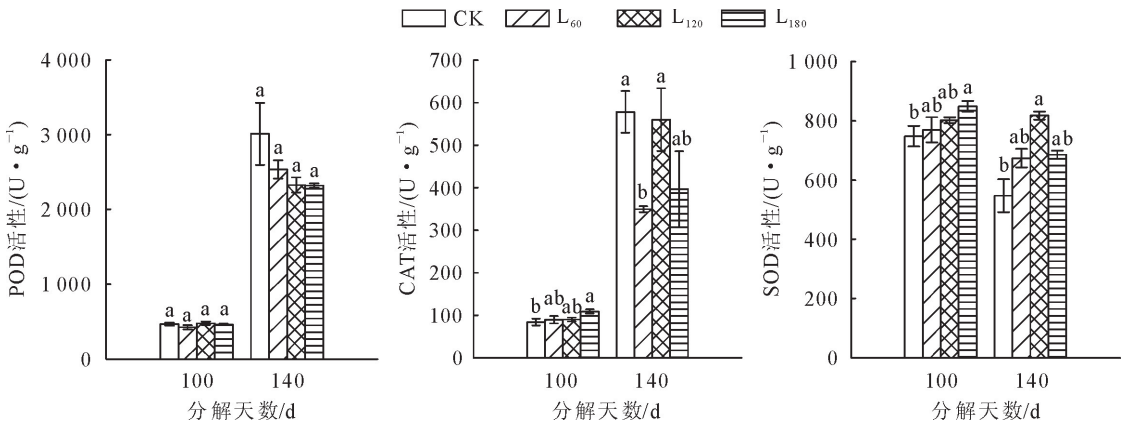
Table 5 Effects of different treatments of walnut leaf litter on gas exchange parameters and net photosynthetic rate of rape

处理	净光合速率 $P_n$ /( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	气孔导度 $G_s$ /( $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	胞间 $\text{CO}_2$ 浓度 $C_i$ /( $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	蒸腾速率 $T_r$ /( $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )
CK	13.824±0.283c	0.141±0.003b	202.02±1.960a	4.308±0.084b
L <sub>60</sub>	13.614±0.266c	0.121±0.002c	180.56±1.359c	3.769±0.039c
L <sub>120</sub>	17.496±0.391a	0.178±0.007a	193.56±2.508b	4.756±0.126a
L <sub>180</sub>	16.008±0.265b	0.153±0.004b	189.34±1.374b	4.290±0.077b

2.4 油菜中后期抗性生理对核桃凋落叶分解的响应

2.4.1 对抗氧化酶活性影响 由图 1 可知,在油菜生长中期(100 d),随着核桃凋落叶添加量的增加,在各处理下油菜过氧化物酶(POD)活性较 CK 均无显著差异( $P>0.05$ ),而超氧化物歧化酶(SOD)活

性和过氧化氢酶(CAT)活性逐渐增强,均在 L<sub>180</sub> 处理下显著 $>CK(P<0.05)$ 。到油菜生长后期(140 d),各处理下的油菜 POD 活性仍无显著差异,CAT 活性在 L<sub>60</sub> 处理下显著 $<CK(P<0.05)$ ,SOD 活性与 100 d 前一样均 $>CK$ ,仅在 L<sub>120</sub> 处理下达到显著差异( $P<0.05$ )。



注:方柱上方不同字母表示差异达到显著( $P<0.05$ ),下同。

图 1 不同添加量核桃凋落叶处理下油菜抗氧化保护酶活性变化

Fig. 1 SOD, CAT and POD activities of rape treated by the different additions of walnut leaf litter

2.4.2 渗透调节物质积累 由图 2 可见,在油菜生长中期(100 d),核桃凋落叶处理下油菜叶片 SS 含量随凋落叶添加量的增加逐渐上升,而 SP 含量的变化趋势恰好相反,SP 含量均 $<CK$ ,且在 L<sub>60</sub> 和 L<sub>180</sub> 处理下均达到显著水平( $P<0.05$ )。在油菜生长后期(140 d),随着核桃凋落叶添加量的增大,SS

和 SP 均呈逐步降低的趋势,且各处理间差距逐渐缩小。同时,在油菜生长中期(100 d)时,各处理下油菜叶片丙二醛(MDA)含量仅在 L<sub>180</sub> 处理下显著 $>CK(P<0.05)$ ,而其他处理与 CK 差异均不显著( $P>0.05$ ),到 140 d 时,各凋落叶处理下的 MDA 含量显著地 $<CK(P<0.05)$ 。

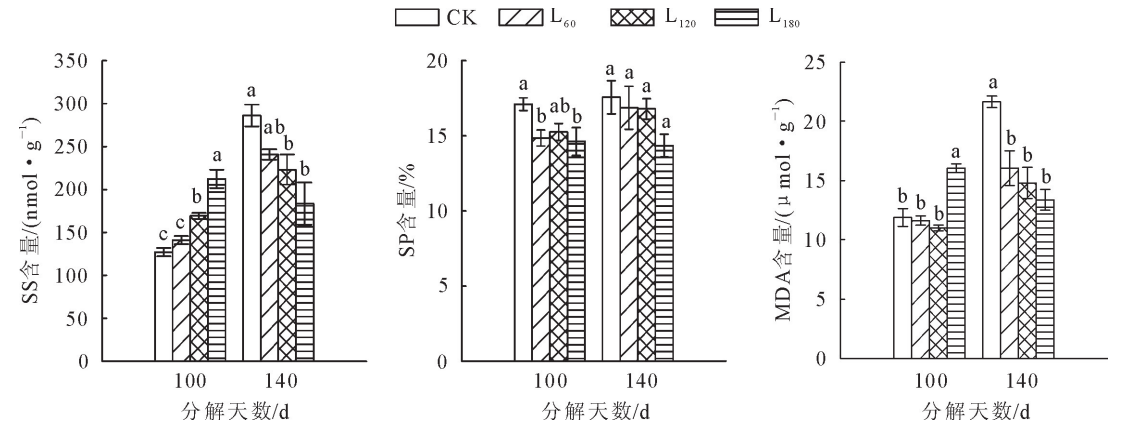


图 2 核桃凋落叶分解对油菜可溶性糖(SS)、可溶性蛋白(SP)和丙二醛(MDA)含量的影响

Fig. 2 The soluble sugar(SS)and soluble protein(SP)and MDA content of rape by different addition of walnut leaf litter

2.5 核桃凋落叶分解对油菜结实种子萌发的影响

由表 6 可见,在核桃凋落叶各添加量处理下油菜结实的种子的发芽率、发芽势、发芽指数和平均发芽时间均表现出随添加量的增加逐渐升高或延长的变化规律,仅在 ZL<sub>120</sub>、ZL<sub>180</sub> 处理下油菜结实种子的

发芽率、发芽势、发芽指数和平均发芽时间与 CK 差异达到显著( $P<0.05$ )。说明核桃凋落叶分解对油菜结实种子的萌发有一定的促进作用,且核桃凋落叶添加剂量越大,结实种子萌发受促进作用越明显。

表 6 核桃凋落叶分解对油菜子代萌发状况影响

Table 6 Effects of different treatments of walnut leaf litter on germination index of progeny of rape

处理	发芽率/%	发芽势/%	发芽指数	平均发芽天数/d
Z <sub>CK</sub>	67.60±1.47b	60.40±3.54b	13.95±0.49b	4.33±0.21b
ZL <sub>60</sub>	73.20±2.87b	68.00±3.52ab	15.45±0.79ab	4.47±0.20b
ZL <sub>120</sub>	81.20±2.15a	75.20±2.33a	16.88±0.53a	5.03±0.18a
ZL <sub>180</sub>	84.00±3.85a	75.60±7.25a	17.39±1.28a	5.28±0.15a

注:平均值±标准差( $n=3$ ),同列不同小写字母表示差异显著。

3 结论与讨论

核桃凋落叶经土壤分解释放的化感物质一方面通过干扰受体植物油菜抗氧化保护酶活性及渗透调节物质、丙二醛的含量水平平衡,对细胞造成明显膜脂过氧化伤害,另一方面则通过抑制油菜光合色素合成,使光合作用受到影响,在两者的共同作用下,油菜的生长受到明显抑制,最终表现在油菜后期生殖性状和产量变化上,但这种影响不会持续到油菜结实种子。因此,在开展核桃农林复合模式经营实践时,应及时收集、清理林下地表上的枯枝落叶,或收集堆沤腐熟后作为有机肥还田,以避免翻耕入土壤后对林下植物生长产生不利影响,由于核桃化感效应机理是涉及多领域的交叉学科,更是非常复杂的生理生化过程,在今后的研究中可以从基因表达、激素调节等多方面进行更加深入研究,有助于了解农林复合经济模式及维持自然界生态系统平衡。

1)本研究发现核桃凋落叶分解对油菜营养生长(株高、地径)和生殖生长均存在明显化感胁迫,而对油菜后期生殖生长影响主要表现在开花性状、产量两方面,其中油菜开花性状受抑制主要表现在油菜的单株总花序数和主花序长度的减少上,而油菜的单花花粉数量和花粉活力影响不明显,陈洪等<sup>[17]</sup>研究发现菠菜(*Spinacia oleracea*)开花性状在蓝桉(*Eucalyptus maidenii*)凋落叶分解处理下表现出促进作用,与本研究结论相反,这可能与化感物质具有选择性及专一性有关,因为不同供体材料所含化感物质类别不同,其发挥的化感效应也不相同,而油菜产量受抑制主要表现在果实数量、单果重量和千粒重减少上,这可能是核桃凋落叶分解释放的化感物质抑制了油菜叶片叶绿素合成,影响其光合作用,抑制中后期植物正常营养生长,最终表现在油菜生殖生长和产量变化上,在陈洪等<sup>[18]</sup>研究香樟凋落叶分解对辣椒生长发育的影响中也得到相似结论。

有研究发现,核桃凋落叶分解对萝卜种子大小、颜色和萌发率均有不良影响,其原因可能是核桃凋落叶中化感物质改变了萝卜的生长及生理状况进而影响后代的生存能力<sup>[19]</sup>,本研究发现,核桃凋落叶处理对油菜结实种子的发芽率、发芽势和发芽指数均表现促进作用,这可能是由于核桃凋落叶分解释放的化感物质在油菜生长初期阻碍了其对养分的吸收和积累,但随凋落叶分解时间延长,凋落叶中化感物质分解释放殆尽,后期凋落叶分解释放的营养物质不断积累占据优势,促进了油菜后期生殖生长的养分吸收积累<sup>[20]</sup>,亦或是油菜后期自身已对前期化感效应产生适应性,随着代谢活力逐步恢复正常,表现出补偿性生长的特征<sup>[21]</sup>,这在油菜单花花粉数量和花粉活力未受影响上可以得到印证;因此,核桃凋落叶分解释放的化感物质对油菜生长的不良影响不会持续到结实种子,这可能与植物在自然界进化历程中形成了自我保护的生殖对策有关<sup>[22]</sup>。

2)逆境条件下,植物体内 2 种不同的重要保护机制包括抗氧化能力和渗透调节物质<sup>[23]</sup>,研究表明,在植物代谢过程中,抗氧化酶系统的主要组成酶类包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT),三者相互协调、共同作用可以有效防止活性氧引起的膜脂过氧化对细胞造成伤害<sup>[24-25]</sup>,同样,由于氧自由基的毒害会发生质膜的过氧化作用,其产物丙二醛(MDA)是常用的膜脂过氧化指标<sup>[26]</sup>,此时,在植物体内作为有机渗透调节物质的可溶性蛋白(SP)、可溶性糖(SS)会被诱导大量形成,直接参与到植物的生理恢复和修复过程<sup>[27-28]</sup>。

本研究发现,在核桃凋落叶分解 100 d 时,油菜 SOD、CAT 活性随凋落叶剂量的增大而增强,说明此时油菜受到核桃凋落叶化感胁迫后,自身抗氧化系统产生积极响应来减弱自身细胞内活性氧造成的细胞膜过氧化伤害。同时,油菜叶片中 MDA 含量仅在 L<sub>180</sub> 处理下显著>CK,说明在高添加量凋落叶

处理下,油菜的抗氧化调节能力不足以抵消化感胁迫,导致其胞质膜透性增强促进 MDA 含量增加。到油菜生长后期即凋落叶分解 140 d 时,各处理油菜 POD、CAT 均呈下降的趋势,仅 SOD 活性均>CK,说明此时油菜受化感胁迫得到一定程度缓解,这在此刻各处理条件下 MDA 含量显著低于 CK 上得到的响应,这可能是因为植物体内存在其他活性氧清除机制,亦或是活性氧自由基通过攻击机体的蛋白质而使自身含量降低,从而减少了对膜脂的伤害<sup>[29-30]</sup>;而 SOD、POD 和 CAT 在同一处理条件下呈现不相同变化规律,可能与核桃凋落叶中化感物质对油菜体内不同抗氧化酶活性的影响程度不同有关<sup>[31]</sup>;本研究在油菜生长中期(100 d)发现其 SS 含量随凋落叶添加量增加逐步升高,而 SP 含量却逐渐降低,SS 含量增长可能是因为核桃凋落叶分解释放的化感物质抑制了油菜根系对土壤中水分的吸收而造成其受到水分胁迫,致使其 SS 大量积累<sup>[32]</sup>,而各处理 SP 含量降低可能是由于核桃凋落叶化感胁迫使油菜对矿物质离子的吸收受阻,导致蛋白质与酶的合成与活性受到影响,最终表现其含量减少;亦或是核桃凋落叶分解释放的化感物质进入油菜的细胞后,破坏其蛋白质结构使其变性沉淀,导致 SP 含量降低<sup>[33]</sup>。

3)化感物质可通过破坏受体植物叶细胞超微结构直接影响其光合作用,主要表现在对植物细胞膜系统和叶绿体等细胞器的破坏上<sup>[34]</sup>,本研究中,核桃凋落叶各处理对油菜叶片中各类光合色素合成均有明显的抑制作用,且凋落叶剂量越大,这种抑制作用越强,但随凋落叶分解时间的延长,到生长后期时(140 d)其抑制作用逐渐减弱,仅在 L<sub>180</sub> 处理下达到显著。这可能是由于可溶性蛋白是光合作用某些关键性酶的有效组成成分,其含量的下降会导致受体植物叶片中各类叶绿体色素合成受阻<sup>[35]</sup>,亦或是受体植物叶绿体片层结构受到化感物质的破坏使其叶绿素含量降低<sup>[36]</sup>。

气孔限制、非气孔限制均是导致植物光合效率降低的两类自身因素,其中气孔限制主要由于叶片部分气孔关闭,而非气孔限制则主要与叶肉细胞光合活性下降相关<sup>[37]</sup>,研究表明,一些化感物质可以通过影响植物叶片气孔导度( $G_s$ )、胞间  $CO_2$  浓度( $C_i$ )和蒸腾速率( $T_r$ )等气孔因素直接影响其光合作用<sup>[38]</sup>;例如,吴秀华等<sup>[39]</sup>研究表明巨桉凋落叶分解对受体植物菊苣叶片的净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ )以及光合色素积累有显著化感抑制作用;本研究中,核桃凋落叶处理下油菜叶片  $P_n$ 、 $G_s$  和  $C_i$  随凋落叶量增加,总体上呈先降后

升的趋势,表明低量核桃凋落叶处理可以抑制油菜叶片气孔的开放及蒸腾,叶片气孔的部分关闭可能是其光合效率下降的主要原因<sup>[38]</sup>,这与徐郑等<sup>[40]</sup>研究发现核桃凋落叶分解对小白菜叶片气孔的开放、蒸腾作用过程均有抑制作用的结论一致。

参考文献:

[1] RICE E L. Allelopathy (2<sup>nd</sup> ed.)[M]. New York: Academic Press,1984.

[2] CHOU C H. Introduction to allelopathy[M]// REIGOSA M J, PEDROL N, GONZÁLEZ L, *et al.* Allelopathy: a physiological process with ecological implications. dordrecht. Dordrecht: Springer, 2006, 1-10.

[3] 周红, 张萍. 新疆野核桃坚果氨基酸含量及营养评价[J]. 西北林学院学报, 2019, 34(2): 148-153.

ZHOU H, ZHANG P. Amino acid composition and nutritional evaluation of Xinjiang wild walnut[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2019, 34(2): 148-153. (in Chinese)

[4] 郝荣庭, 张毅萍. 中国果树志(核桃卷)[M]. 北京: 中国林业出版社, 1996: 1.

[5] 叶尔兰·对山别克, 艾比布拉·伊马木. 香梨果园套种苏丹草对土壤养分及产草量的影响[J]. 西北林学院学报, 2019, 34(4): 139-144.

YEERLAN D S B K, AIBIBULA Y M M. Effect of interplanting sudan grass on soil nutrients and herbage yield in pear orchard[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2019, 34(4): 139-144. (in Chinese)

[6] 郑丽, 冯玉龙. 紫茎泽兰叶片化感作用对 10 种草本植物种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(10): 2782-2787.

[7] 赵岩, 刘淑萍, 吕朝霞. 核桃青皮的化学成分与综合利用[J]. 农产品加工, 2008(11): 67-69.

[8] 潘富赞, 张培正. 核桃青皮的综合应用及开发前景[J]. 中国食物与营养, 2010(12): 23-26.

[9] NESRINE S, DARIER S M, TAHER H M. The effect of soil in the allelopathic potential of artemisia herba-alba and oudneya africana crude powder on growth of weeds[J]. Agricultural and Food Engineering, 2013, 7(12): 864-867.

[10] TURK M A, TAWAHA A M. Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and grow of lentil Pakistan[J]. Journal of Agronomy, 2002, 1(1): 28-30.

[11] TURK M A, TAWAHA A M. Allelopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L) [J]. Crop Protection, 2003, 22: 673-677.

[12] 丁伟, 胡庭兴, 李仲彬, 等. 核桃凋落叶分解对莴笋抗氧化系统及光合特性的影响[J]. 西北植物学报, 2014, 34(4): 769-777.

DING W, HU T X, LI Z B, *et al.* Effects of decomposing walnut leaf litter on antioxidant systems, photosynthetic characteristics and growth of lettuce[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014, 34(4): 769-777. (in Chinese)

[13] 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]. 生态学报, 2014, 34(23): 6855-6863.

[14] GIANNOPOLITIS C N, ROES S K. Superoxide dismutases.



I. Occurrence in high plants[J]. Plant Physiology, 1977, 59: 309-314.

[15] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川科技出版社, 2003.

[16] 杨敏文. 快速测定植物叶片叶绿素含量方法的探讨[J]. 光谱实验室, 2002, 19(4): 478-481.

[17] 陈洪, 周光良, 胡庭兴, 等. 蓝桉凋落叶分解对菠菜生长及光合特性的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(7): 1-12.

CHENG H, ZHOU G L, HU T X, *et al.* The effect of decomposing leaf litter of blue gum (*Eucalyptus globulus*) on the growth and photosynthetic characteristics of spinach (*Spinacia oleracea*) [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(7): 1-12. (in Chinese)

[18] 陈洪, 胡庭兴, 王茜, 等. 香樟凋落叶分解物对辣椒生长发育的影响[J]. 西北植物学报, 2014, 35(12): 2525-2534.

CHENG H, HU T X, WANG Q, *et al.* Effect of decomposing leaf Litter of *Cinnamomum camphora* on growth and development of capsicum annum [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014, 35(12): 2525-2534. (in Chinese)

[19] 王茜, 徐郑, 胡庭兴, 等. 核桃凋落叶分解对萝卜生长和生理的影响[J]. 西北植物学报, 2014, 34(12): 2475-2482.

WANG Q, XU Z, HU T X, *et al.* Effect of decomposing walnut leaf litter on the growth and physiology of radish [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014, 34(12): 2475-2482. (in Chinese)

[20] 黄微微, 胡庭兴, 张念念, 等. 银木凋落叶腐解过程对小白菜生长和抗性生理的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(12): 3883-3891.

[21] 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]. 生态学报, 2014, 34(23): 6855-6863.

HUANG J B, HU T X, WU Z L, *et al.* Effects of decomposing leaf litter of *Juglans regia* on growth and physiological characteristics of *Triticum aestivum* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(23): 6855-6863. (in Chinese)

[22] ROMAGNI J G, ALLEN S N, DAYAN F E. Allelopathic effects of volatile cineoles on two weedy plant [J]. Journal of Chemistry Ecology, 2000, 26(1): 303-314.

[23] 王娟, 李德全. 逆境条件下植物体内渗透调节物质的积累与活性氧代谢[J]. 植物学通报, 2001, 18(4): 459-465.

[24] 张春梅, 邹志荣, 张志新, 等. 外源亚精胺对模拟干旱胁迫下番茄幼苗活性氧水平和抗氧化系统的影响[J]. 应用与环境学报, 2009, 15(3): 301-307.

ZHANG C M, ZHOU Z R, ZHANG Z X, *et al.* Effects of exogenous spermidine on reactive oxygen levels and antioxidative system of tomato seedling under polyethylene glycol stress [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2009, 15(3): 301-307. (in Chinese)

[25] 邵海燕, 陈杭君, 陈文恒, 等. 采收成熟度对冷藏水蜜桃果实品质和冷害的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42(2): 612-618.

[26] 芦站根, 周文杰, 牛玉璐. 黄顶菊水浸提液对小麦幼苗的生理效应[J]. 麦类作物学报, 2012, 32(1): 123-126.

LU Z G, ZHOU W J, NIU Y L. Physiological effects of water extract from flaveria bidentis on wheat seedlings [J]. Journal of Triticeae Crops, 2012, 32(1): 123-126. (in Chinese)

[27] 邵艳军, 山仑, 李广敏. 干旱胁迫与复水条件下高粱、玉米苗期渗透调节及抗氧化比较研究[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(1): 68-70.

[28] 高英志, 王艳华, 王静婷, 等. 草原植物碳水化合物对环境胁迫响应研究进展[J]. 应用生态学报, 2009, 20(11): 2827-2831.

GAO Y Z, WANG Y H, WANG J T, *et al.* Research advances in the responses of carbohydrates in grassland plants to environmental stress [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(11): 2827-2831. (in Chinese)

[29] DING J, SUN Y, XIAO C L, *et al.* Physiological basis of different allelopathic reactions of cucumber and figleaf groud plants to cinnamic acid [J]. J. Exp. Bot., 2007, 58(13): 3765-3773.

[30] 杨延杰, 王晓伟, 赵康, 等. 邻苯二甲酸对萝卜种子萌发、幼苗叶片膜脂过氧化及渗透调节物质的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(19): 6074-6080.

[31] 陈洪, 胡庭兴, 杨万勤, 等. 巨桉凋落叶分解初期对老芒麦幼苗生长和抗性生理的影响[J]. 草业学报, 2011, 20(5): 57-65.

CHENG H, HU T X, YANG W Q, *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, 2011, 20(5): 57-65. (in Chinese)

[32] 张一波, 丁爽, 陶丽华, 等. 镧对酸雨胁迫下水稻种子可溶性蛋白和脯氨酸含量的影响[J]. 环境化学, 2009, 28(3): 387-391.

[33] 贾黎明, 翟明普, 冯长红. 化感作用物对油松幼苗生长及光合作用的影响[J]. 北京林业大学学报, 2003, 25(4): 6-10.

JIA L M, ZAI M P, FENG C H. Effects of allelopathic substances on the growth and photosynthesis of *Pinus tabulaeformis* seedlings [J]. Jourual of Beijing Forestry University, 2003, 25(4): 6-10. (in Chinese)

[34] 吴凤芝, 潘凯, 马凤鸣, 等. 苯丙烯酸对黄瓜幼苗光合作用和细胞超微结构的影响[J]. 园艺学报, 2004, 31(2): 183-188.

[35] 周凯, 郭维明, 王智芳, 等. 菊花不同部位及根际土壤水浸液处理对光合作用的自毒作用研究[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(2): 318-322.

[36] 曾任森, 骆世明, 施月红. 日本曲霉产生的黑麦酮酸 F 对玉米的化感作用[J]. 应用生态学报, 2004, 15(1): 145-148.

[37] 许大全. 光合作用气孔限制分析中的一些问题[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(4): 241-244.

[38] 吴秀华, 胡庭兴, 杨万勤, 等. 巨桉凋落叶分解对菊苣生长及光合特性的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(1): 1-8.

[39] 吴秀华, 李羿桥, 胡庭兴, 等. 巨桉凋落叶分解初期对菊苣生长和光合特性的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(7): 1817-1825.

[40] 徐郑, 胡庭兴, 李仲彬, 等. 不同生境条件下核桃凋落叶次生代谢物质的差异及其分解初期对小白菜光合生理特性的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(15): 5147-5156.

XU Z, HU T X, LI Z B, *et al.* Effect of secondary metabolites in *Juglans regia* leaf litter from different habitats on photosynthetic physiological characteristics of *Brassica chinensis* during early decomposing stage of leaf litter [J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 24(7): 1817-1825. (in Chinese)