

# 蔗糖脂肪酸酯对大豆叶片超氧化物歧化酶和叶绿素的影响\*

叶小利 李学刚 陈时洪 王 强

(西南农业大学 中心试验室 重庆 400716)

**摘要** 本文研究了蔗糖脂肪酸酯(SFE)对开花期和结荚期大豆叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、叶绿素含量和大豆产量的影响。实验结果表明,在大豆开花期和结荚期两个时期都喷施0.1%的SFE后,可以使SOD酶的相对活力提高41%、叶绿素b的含量提高58%左右,并在处理后4~5天叶绿素含量最高;SFE能增加叶片中的含氮量2倍左右,增加植株的单株结荚数70%和种子的百粒重32%,并能提高种子中的蛋白质含量4.8%。

**关键词** 蔗糖脂肪酸酯;超氧化物歧化酶;叶绿素;产量

## 0 前言

大豆是一种需氮很多的作物,在鼓粒期间,N素从叶片或其它营养组织运送到种子,这势必会降低叶片中的N素水平,使叶片中的蛋白质发生分解,从而降低了生理活动,最终引起叶片的衰老,限制了大豆的固氮能力和缩短了鼓荚期<sup>[1]</sup>。叶片的早衰是产量提高的一个重要限制因素<sup>[2]</sup>。向着生荚提供大量的氮素和光合产物是增加产量的一个重要因素<sup>[3]</sup>。表面活性剂作为乳化剂、润湿铺展剂和渗透剂等,在植物的叶面肥和农药的施用中广泛地被用作添加剂。在作物的叶面肥中加入一定量的表面活性剂能增加植物叶面吸氮的能力和光合作用,以及增加叶绿素含量<sup>[1,4,5,6]</sup>,同时还能增加植物对N素的利用(40%增加到70%)<sup>[7,8]</sup>。本文研究了表面活性剂对大豆叶片SOD酶活力、叶绿素含量和大豆产量的影响,试图弄清表面活性剂对大豆体内生理生化性质的作用机理,促进表面活性剂在农业上的应用。

## 1 材料与方法

### 1.1 表面活性剂

蔗糖脂肪酸酯( $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{COO} \cdot \text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_{10}$ , HLB为15,记为SFE);为重庆化学试剂

\* 收稿日期 1999-07-12  
Received on July 12, 1999

公司化学纯产品,直接使用。

## 1.2 试验材料及处理

选西豆 3 号,田间种植 1333m<sup>2</sup> 地,分为 60 个小区—20 个小区,3 次重复;除试验产量的面积较大(每个小区为 33.3m<sup>2</sup>)以外,其余面积较小;产量为 3 次重复的平均,适时灌溉,至开花期和结荚期用于实验。在晴天傍晚用一定浓度的 SFE 溶液对长势均匀的大豆进行叶面喷施处理。10 小时后按实验需要选取中上部充分伸展的 3~6 节位叶片用于测定 SOD 酶活力、叶绿素含量和蛋白质的含量。

## 1.3 超氧化物歧化酶(SOD)的提取

在大豆开花期和结荚期,按实验要求选取长势均匀的大豆叶片,用蒸馏水清洗干净,吸干,称取 0.2g 大豆叶片于预冷的研钵中,加少量石英砂及 0.05mol/LpH 为 7.0 磷酸缓冲液(磷酸缓冲液的终体积为 2ml,即样品:缓冲液=1:10),在冰浴中研磨成匀浆,全部转入到离心管中,于 3500rpm 离心 10 分钟,取上清液再于 12000rpm 下离心 10~15 分钟,所得的上清液即为 SOD 提取液,可以直接用于酶活力的测定。

## 1.4 SOD 活力的测定

SOD 酶活力的测定方法采用 Giannopolitis 和 Ries<sup>[9]</sup>的氮兰四唑(NBT)光还原法。将对照的活力作为 100%,每天取样测试时,均是以未处理的同等条件下的大豆叶片的 SOD 的活力作为 100%,处理的样品与之比较计算相对活力。

## 1.5 叶绿素含量的测定

在尿素溶液中加入不同浓度的 SFE 后处理大豆叶片,按实验要求取下叶片并用打孔器打成小圆片,混合均匀后称取 0.01g 叶片放入具塞试管中,并加入 5ml 提取液(95%乙醇:80%丙酮(1:1)),避光并在 35±4℃条件下恒温数小时,其间摇动几次;直至叶片完全变白,然后分别在 663nm 和 645nm 进行比色;比色时,以提取液作参比,并按 Arnon<sup>[10]</sup>提供的测定叶绿素的方法分别计算叶绿素 a、叶绿素 b、以及总叶绿素的含量。实验重复 3 次。

## 1.6 蛋白质含量的测定

将用表面活性剂处理后的大豆叶片用蒸馏水冲洗干净后,切成小碎片,混匀后称取 1g 大豆叶片,用浓硫酸消化后,利用凯氏定氮仪测定叶片中的总氮量。

大豆种子中蛋白质含量的测定:收割后的大豆种子在 100℃下烘干,磨成粉,称取 0.5g 用于定氮,测定种子中蛋白质含量的变化。

# 2 实验结果

## 2.1 SFE 对开花期和结荚期 SOD 酶活力的影响

图 1 和图 2 分别示出了 SFE 对大豆开花期和结荚期叶片中 SOD 酶活力的影响结果。

无论是在开花期或是在结荚期,对大豆叶片喷施 SFE 溶液后,叶片中的 SOD 酶活力能在较短时间内有较大幅度的提高。这种高活力状态大约可以保持两天左右,随着时间的延长,酶的活力会逐渐下降。另外,随着 SFE 浓度的增加,酶的相对活力不断增加,尤其是

2mmol/L 的 SFE 能使酶的相对活力分别提高 24% 和 40%, 而且 SFE 浓度越高, 酶的高活力状态保持得越久。

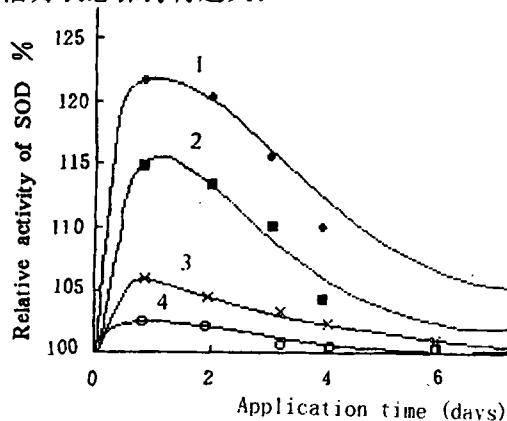


图 1 SFE 对大豆开花期间 SOD 酶活力的影响

Fig. 1 Effects of SFE on SOD activity during flowering

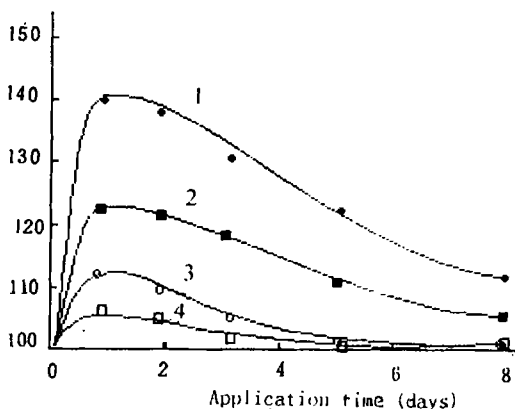


图 2 SFE 对大豆结荚期 SOD 酶活力的影响

Fig. 2 Effects of SFE on SOD activity during pod filling

1, 2mmol/L 2, 1mmol/L 3, 0.5mmol/L 4, 0.1mmol/L 1, 2mmol/L 2, 1mmol/L 3, 0.5mmol/L 4, 0.1mmol/L

## 2.2 SFE 对开花期大豆叶片中叶绿素 a、b 及总叶绿素含量的影响

图 3 示出了 SFE 对开花期大豆叶片中叶绿素 a、b 以及总叶绿素含量的影响。

在相同的处理时间内, 对照中叶绿素 a 的含量变化甚微, 并略有下降。对大豆叶片喷施 SFE 溶液后, 叶片中叶总叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b 的含量在不同程度上有所提高。加入的 SFE 越多, 叶绿素含量上升的幅度越大。0.1% 的 SFE 能在短时间内较大幅度地提高叶绿素 a 的含量, 并随着处理时间的延长, 叶片中的叶绿素含量逐渐增加; 处理后的 3~4 天, 叶片中的叶绿素含量达到最大值, 与相同时间的对照相比, 相对含量提高了 60% 左右。然后, 叶片中的叶绿素 a 含量会逐渐下降, 但此时的含量也比未处理的对照要高得多。

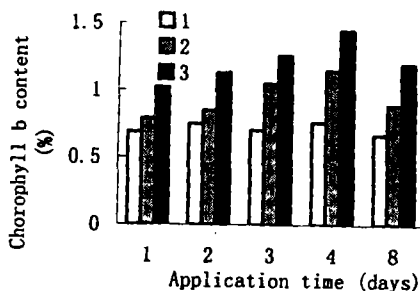
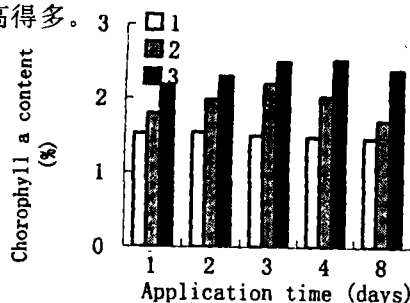


图 3 SFE 对大豆叶片中叶绿素含量的影响

Fig. 3 The effects of SFE on the contents of chlorophyll

1, 对照 2, 尿素+0.05% SFE 3, 尿素+0.1% SFE

从图中可以发现, SFE 对叶绿素 b 的影响与它对叶绿素 a 的影响有一定的相似, 只是叶绿素 b 含量增加的幅度略高于叶绿素 a。这说明表面活性剂对叶绿素的含量变化有较大的影响, 即能较显著地提高叶片中叶绿素的含量。

## 2.3 表面活性剂对结荚期大豆叶片中叶绿素含量的影响

表 1 示出了单独在结荚期或在开花期和结荚期两个时期对大豆喷施 SFE 溶液后,叶

表 1 SFE 的不同喷施时间对大豆叶片中叶绿素 a、b 及总含量的影响

Table 1 Effects of SFE on the contents of chlorophyll a, b and total chlorophyll

处理 Treatment	喷施时间 Application period	喷后天数 Days after application	叶绿素 a Chlorophyll a content (mg. g <sup>-1</sup> )	叶绿素 b Chlorophyll b content (mg. g <sup>-1</sup> )	叶绿素含量 Total chlorophyll content (mg. g <sup>-1</sup> )	a/b
Control		1	1.801	0.945	2.742	1.906
		2	1.923	0.970	2.891	1.982
		3	2.016	0.962	2.973	2.079
		5	1.865	0.935	2.791	1.994
		9	1.737	0.785	2.515	2.213
Urea alone	开花+结荚 Flowering+ pod-filling	1	1.945	0.983	2.928	1.978
		2	2.016	1.085	3.101	1.868
		3	2.115	1.076	3.191	1.966
		5	2.168	1.185	3.353	1.829
		9	2.089	1.037	3.126	2.014
	结荚 Pod-filling	1	1.920	0.912	2.832	2.105
		2	1.995	0.987	2.982	2.021
		3	2.005	1.036	3.041	1.935
		5	2.025	1.075	3.100	1.883
		9	1.939	0.987	2.926	1.964
Urea + 0.05%SFE	开花+结荚 Flowering+ Pod-filling	1	2.161	1.056	3.217	2.046
		2	2.222	1.135	3.357	1.957
		3	2.245	1.324	3.569	1.695
		5	2.301	1.388	3.689	1.657
		9	2.112	1.175	3.287	1.797
	鼓粒 Pod-filling	1	2.032	0.980	3.012	2.073
		2	2.035	1.082	3.117	1.881
		3	2.121	1.195	3.316	1.775
		5	2.185	1.268	3.453	1.723
		9	2.037	1.070	3.107	1.903
Urea + 0.1%SFE	开花+结荚 Flowering+ Pod-filling	1	2.115	1.053	3.168	2.008
		2	2.248	1.271	3.519	1.768
		3	2.393	1.385	3.678	1.728
		5	2.536	1.476	4.012	1.718
		9	2.415	1.398	3.813	1.727
	结荚 Pod-filling	1	1.992	0.976	2.968	2.041
		2	2.037	1.131	3.168	1.801
		3	2.178	1.230	3.378	1.771
		5	2.384	1.321	3.705	1.804
		9	2.133	1.095	3.228	1.948

(注:实验数据重复 3 次。)

片中叶绿素的变化情况。

无论是单独在结荚期,或者是在开花期和结荚期都喷施含 SFE 的尿素溶液,都会从不同程度上提高叶片中叶绿素的含量(包括叶绿素 a、b 以及总叶绿素含量)。与对照相比,单独喷施尿素溶液对叶片中的叶绿素含量有一定的提高,但是变化幅度不很显著。然而在其中加入少量的 SFE 后,叶片中的叶绿素含量大大提高了;并且随着 SFE 浓度的增加,叶片中叶绿素 a、b 以及总叶绿素的含量都会明显增加。这有利于叶片进行光合作用,对光合产物的供应和作物产量的提高奠定了物质基础。

实验结果表明,在开花期和结荚期都喷施含 SFE 的尿素溶液后,叶片中的叶绿素含量会大幅度地提高,尤其是在处理的第五天,叶绿素 b 的含量达到最高,与同时期的对照相比,其相对含量可提高 58.7% (见图 3)。

2.4 SFE 对大豆叶片含氮量和对种子产量及蛋白质含量的影响

表 2 示出了在开花期或结荚期或开花期和结荚期对大豆叶片喷施含 SFE 的尿素溶液后,叶片中含氮量、种子中蛋白质含量的变化以及对种子产量的影响。产量的计算为 3 个重复,每个重复为 100 株(面积为 33.3m<sup>2</sup>),取平均值,相对误差为 10%。

从表中可以看出,在喷施尿素溶液后的第二天,大豆叶片中含氮量会有一定的增加;对大豆喷施含 SFE 的尿素溶液后,叶片中的含氮量增加更明显,并且随着 SFE 浓度的增加,含氮量会逐渐增加。可见,SFE 促进大豆叶片吸收尿素的能力很强,在短时间内就可以明显提高叶片中的含氮量。

表 2 表面活性剂的不同处理浓度及时间对大豆叶片含氮量和种子的蛋白质含量及产量的影响

Table 2 Effects of different application concentration and time on the nitrogen content of leaf and on the protein content and yield of seed of soybean

处理 Treatment	时期 Period	叶含 N 量 Leaf nitrogen content (%)	籽粒蛋白含量 Seed protein content (%)	单株粒重 Seed weight per plant (g)	全株重 Total grains per plant	百粒重 Seed weight per 100 (g)	产量 Relative yield (%)
Control		2.73	47.03	28.5	208	13.65	
Urea	Flowering	3.09	47.16	27.2	201	13.54	99.2
Alone	Pod-filling	3.32	47.52	30.1	215	13.98	102.4
	Flowering + pod-filling	4.61	48.26	34.4	234	14.69	107.6
Urea+	Flowering	3.60	47.57	40.9	282	14.51	106.3
0.05%SFE	Pod-filling	4.05	47.84	46.9	321	14.62	107.01
	Flowering + pod-filling	6.05	48.59	58.1	338	17.20	125.96
Urea+	Flowering	5.62	47.93	41.8	278	15.08	110.4
0.1%SFE	Pod-filling	6.41	48.01	46.8	285	16.42	120.2
	Flowering + pod-filling	6.89	49.32	63.6	353	18.02	131.9

\* :数据为 25 株大豆的平均,叶片含氮量的测定时间都在结荚期喷施表面活性剂溶液后的第二天。

在开花期或结荚期对大豆喷施尿素溶液后,叶片中的含氮量比对照略有增加;而在开花期和结荚期两个时期喷施尿素溶液后,叶片中的含氮量会大幅度提高。

种子的蛋白质含量与叶片有相同的变化趋势。只是种子的蛋白质含量增加的幅度没有叶片中的变化明显。

从表中不难看出,在开花期和结荚期都喷施含 SFE 的尿素溶液后,植株的单株结荚数、百粒重都有明显的增加;与对照相比,在两个时期都用含较高浓度的 SFE 的尿素溶液处理后,植株的单株结荚数可提高约 70%,种子百粒重也可以提高约 32%,种子的蛋白质含量可增加 4.8%。

### 3 讨论

Sinclair 等曾在大豆上提出过一个“自我破坏”的假设:即在大豆籽粒充实期,由于大量氮素向籽粒输送,使叶片中蛋白质的含量减少而造成光合功能的破坏,导致叶片早衰<sup>[11]</sup>。叶片功能期的长短是农作物高光效性能的重要组成因素,叶片的早衰是产量提高的一个重要限制因素(Hardy 等 1977)。向着生荚提供大量的氮素以及提高作物对营养物质的吸收是增加产量的一个重要途径。

前人的实验工作表明,在作物的叶面肥中加入一定量的表面活性剂能增加植物叶面吸氮的能力和光合作用,以及增加叶绿素含量<sup>[1,4,5,6]</sup>,同时还能增加植物对 N 素的利用(40%增加到 70%)<sup>[7,8]</sup>。

作物在受到环境胁迫或衰老时,产生许多自由基并在体内累积,体内的平衡状态受到破坏,导致膜脂过氧化,代谢紊乱,致使植物受到伤害<sup>[12,13]</sup>。SOD 是存在于植物细胞中很重要的清除自由基的酶之一,它的活力越高,清除自由基的能力越强。实验表明,在大豆的开花期和结荚期喷施含 SFE 的尿素溶液后,叶片中的 SOD 酶活力能在较短时间内有较大幅度的提高。尤其是 2mmol/L 的 SFE 能使酶的相对活力分别提高 20%和 40%(见图 1 和图 2)。从某种意义上说,SFE 延缓了大豆叶片的衰老,加强了植物叶片的营养生长能力。

李雄彪等人提出叶片蛋白质和叶绿素含量的减少是叶片衰老的特征之一<sup>[14]</sup>。与对照相比,SFE 能使叶片中的叶绿素含量大大提高,为光合产物的供应和作物产量的提高奠定了物质基础。另外,SFE 还能增加叶片及种子中的含氮量,说明 SFE 延续了大豆叶片的衰老;另一方面,也促进了大豆叶片对尿素的吸收,提高了营养物质的利用率,最终增加了作物的产量。

### 参 考 文 献

- 1 Ikeda M, Choi WK, Yamada Y. Sucrose fatty acid esters enhance efficiency of foliar applied area nitrogen. *Fertilizer Research*, 1991,29(2): 127~131
- 2 Hardy RWF, Havelka UD, Quebedeaux B. Increasing crop productivity: The problem, strategies, approach, and selected rate-limitation related to photosynthesis. In Hall DO, Coombs J., Goodwin TW (eds). *Proceedings of the*

- Fourth International Congress on Photosynthesis London. 1977, p:695~719
- 3 Billy E. Caldwell 著,赵永贵译,大豆的改良生产和利用,农业出版社 1980,5~16
- 4 Choi WK, Ikeda M, Yamada Y. Use of sucrose fatty acid esters in foliar application of urea. *Soil Sci. Plant Nutr.* 1989,35: 151~156
- 5 Sinclair TR, Deuit CT. Photosynthate and N requirement for seed production by various crops. *Science.* 1975,189: 565~569
- 6 Streeter JG., Mederski HJ, Ahmad HA, World Soybean Research Conference I: Proceedings. Boulder Co, Westview Press, 1989,129~135
- 7 Morris DR, Wearer RW. Absorption and translocation of foliarly applied N by soybean. *Agr. J.* 1983,(75): 572~576
- 8 Vasilas BL, Legg JO, Woelf DC. Foliar fertilization of soybeans: absorption and translocation of N-labeled area. *Agr. J.* 1980,72: 271~175
- 9 Glannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutase. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedling. *Plant Physiol.* 1977, 59: 315~318
- 10 Arnon, DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 1949,24:1~5
- 11 Sinclair TR, Witcombe. Analysis of the carbon and nitrogen limitation to soybean yield. *Agr. J.* 1976, 68:319~324
- 12 王根轩,杨成德,梁厚果,蚕豆叶片发育与衰老过程中超氧化物歧化酶活性与丙二醛含量变化. *植物生理学报.* 1989,15(1):13~17
- 13 王异星,林植芳,郭俊彦,豌豆叶绿体脂氧合酶活性与叶片衰老与膜脂过氧化作用的关系, *植物生理学报.* 1990,16(1):57~62
- 14 李雄彪,吴光耀,蚕豆叶中双磷酸核酮糖羧化酶—加氧酶和苹果酸脱氢酶活性变化及其与叶片发育的关系, *植物生理学报.* 1982,8(3):192~203

## THE EFFECTS OF SUCROSE FATTY ACID ESTER(SFE) ON THE ACTIVITY OF SUPEROXIDE DISMUTASE AND CHLOROPHYLL OF SOYBEAN LEAF

Ye Xiaoli Li Xuegang Cheng Shihong Wang Qiang

(Central Laboratory, Southwest Agricultural University, Chongqing, 400716)

**Abstract** Effects of sucrose fatty acid ester (SFE) on the activity of Superoxide Dismutase (SOD), chlorophyll and yield of soybean (*Glycine max.*) had been studied. Application 0.1% of SFE during the period of both flowering and pod filling, the activity of SOD was increased by 41%, and chlorophyll b increased by 58%. The content of chlorophyll reached maximum in 4~5 days after application. The results showed that SFE could elevate the content of nitrogen in leaves about 2-fold, the total pods per plant by 70%, the seed weight per 100 grains by 32%, and the content of protein in seed by 4.8%.

**Key words** Sucrose fatty acid ester(SFE); SOD; Chlorophyll; Yield