

文章编号: 1005-0906(2007)04-0075-04

不同密度玉米种皮形态建成及 胚乳淀粉粒超微结构差异

王庆成, 刘 霞, 李宗新, 刘开昌, 张 慧

(山东省农科院玉米研究所, 济南 250100)

摘 要: 试验以鲁单 981 为材料, 研究了 30 000 株 /hm²(低密度)和 90 000 株 /hm²(高密度)种植密度下, 玉米种皮的形态及胚乳淀粉粒超微结构。结果表明, 随着子粒的发育, 内珠被中的细胞质首先作为营养物质被吸收、解体, 形成类似珠被绒毡层的黑层。黑层退化消失的同时, 子房壁细胞也离散解体, 最终使子房壁和内珠被愈合在一起形成种皮。授粉后 10 ~ 15 d 是胚乳淀粉粒发育的质变时期; 授粉后 20 ~ 25 d 是淀粉粒发育的量变时期。高密度处理的种皮细胞总层数约占低密度处理的 1/2, 但其各层细胞中的内容物相对较多, 种皮形态建成的速度较慢。授粉后 10 ~ 20 d, 高密度处理的胚乳淀粉粒明显比低密度处理大且多; 而授粉后 25 d 表现相反。玉米胚乳淀粉粒的剖面面积多数集中在 0.28 ~ 0.56 μm^2 , 约占 24.8%, 剖面面积大于 2.52 μm^2 的淀粉粒仅占 5.2%。

关键词: 玉米; 种皮; 形态建成; 淀粉粒发育; 种植密度

中图分类号: S513.01

文献标识码: A

Investigations on Seed Coat Morphogenesis and Starch Granule Development in Maize Endosperm

WANG Qing-cheng, LIU Xia, LI Zong-xin, LIU Kai-chang, ZHANG Hui

(Institute of Maize, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract: In order to elucidate the developing disciplinarians of seed coat and starch granule in maize endosperm, Ludan981 was used to study the morphogenesis of seed coat and development of starch granule in maize endosperm in two planting densities, 30 000 plants/ha(lower density) and 90 000 plants/ha(higher density). The results showed that the cytoplasm of inner-integument were absorbed and crushed firstly to develop into black layer, which is similar to integumentary tapetum. Companied with the degenerateness of black layer, the ovary wall cells dispersed and with the result that the ovary wall united with the inner-integument, referred to as seed capsule. The phase, from 10 to 15 days after pollination, was decisive for the qualitative changing of starch granule development but from 20 to 25 days after pollination was the critical phase of quantitative changing of that. The cell contents under higher density were more abundant and the morphogenesis speeds of seed capsule were slower than those under lower density. From 10 to 20 days after pollination, the starch granules under higher density were obvious larger and more than those under lower density but which was smaller and less at 25 days after pollination. Most of the starch granule section area ranged from 0.28 to 0.56 μm^2 , which account for 24.80% of total starch granule. Only 5.2% of total starch granules that section area were higher than 2.52 μm^2 .

Key words: Maize; Seed coat; Morphogenesis; Starch granule development; Planting density

收稿日期: 2007-03-06

基金项目: “国家粮食丰产科技工程——山东省小麦玉米两熟丰产高效技术与示范”(2004BA520A08)、山东省农业科学院青年科研基金(2005YQ009)

作者简介: 王庆成(1957-), 男, 研究员, 主要从事玉米高产栽培理论与技术研究。Tel: 0531-83178167

E-mail: qcwang@saas.ac.cn

刘 霞为本文通讯作者。Tel: 13969093441

E-mail: liuxia@saas.ac.cn

玉米淀粉在食品及发酵工业中应用十分广泛, 对其发育、结构及调控的研究十分必要。国内外已有一些关于玉米胚乳内淀粉粒的形态特征和淀粉含量调控的研究。有关种植密度对玉米种皮的形态建成过程、胚乳淀粉粒超微结构以及淀粉粒的剖面面积的影响等鲜见报道。利用荧光显微镜和透射电镜对不同密度条件下玉米种皮的形态以及胚乳淀粉粒的

超微结构进行分析研究,对于揭示玉米种皮形态建成和胚乳淀粉粒发育的机理,提出调节玉米淀粉含量的技术途径和指导玉米优质高产栽培具有十分重要的理论和实践意义。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于2005年6~10月在山东省六一农场试验田进行,供试品种为鲁单981。试验共设置30 000株/hm²和90 000株/hm²两个种植密度。小区面积19.8 m²,随机区组排列,重复3次。试验地前茬为小麦,秸秆直接还田。播种前造墒并深翻30 cm,基肥施纯氮340 kg/hm²、P₂O₅ 150 kg/hm²和K₂O 150 kg/hm²。其他田间管理措施按玉米高产技术规程进行。

1.2 取样及测定方法

自授粉后10 d起,每隔5 d取果穗中部子粒,切取胚与花柱遗迹之间的子粒横切面,用4%戊二醛固定,磷酸缓冲液冲洗。再用1%锇酸固定,乙醇梯度脱水,Epon-812(环氧树脂)浸透与包埋。LKB-7800型超薄切片机切片,切片厚度0.6 μm。部分切片放到载玻片上,加热至60℃,吸干水分,干燥后在60℃下用碱性品红-亚甲基蓝染色液染色。BX-51型OLMPUS荧光显微镜观察及数码照相,进行种皮形态建成和淀粉粒分布研究。部分材料在定位后用醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色,JEM-1200EX型透射电镜下观察照相,用于淀粉粒超微结构研究。

2 结果与分析

2.1 不同密度处理的玉米种皮形态差异

授粉后10 d,玉米子房壁约有20~40层细胞,其最外几层细胞呈扁长形,细胞中含有明显的细胞核、淀粉等内容物。越靠近内层的细胞越小,至接近内珠被时细胞已基本成圆形小颗粒。内珠被所含细胞数目最少,约5~10层。每层细胞大小基本一致,细胞中内容物相对较少。内珠被与胚乳相连部位的细胞颜色较深,呈明显的黑色分界线。胚乳细胞数目最多,超过了子房壁细胞的层数。与子房壁和内珠被细胞不同之处在于胚乳最外层细胞小,且颜色较深;内层细胞大,细胞呈透明状。处理间比较可见,种植密度对玉米种皮形态建成的影响主要体现在子房壁细胞的层数和内容物含量上。其中,低密度处理的子房壁细胞约有40层;高密度处理的子房壁细胞层数相对较少,仅20层左右,但其各层细胞中的内容物明显比低密度处理多。

授粉后15 d时,子房壁、内珠被和胚乳细胞的形态、数量和内容物等均发生显著变化。其中,子房壁的内层细胞已开始解体,细胞数量大幅减少。内珠被细胞彼此离散,细胞质和细胞核解体,细胞被破坏,其内表皮细胞已发育成颜色较深的类似珠被绒毡层的黑层。胚乳细胞的细胞壁明显变薄,细胞内容物显著增多,细胞内已明显可见大大小小的淀粉粒,且越靠近胚乳内层,细胞中的淀粉粒越大、数量越多。高密度处理的胚乳细胞中的淀粉粒明显比低密度处理大而多。

授粉后20 d,两个处理的子房壁细胞均已慢慢降解为黑色的小颗粒。而黑层已浓缩成一条黑带,连接着子房壁和胚乳细胞。胚乳细胞中除淀粉粒的体积和数量较授粉后15 d有所增加外,其他结构变化不甚明显,处理间仍表现为高密度处理的淀粉粒明显比低密度处理大且多。

授粉后25 d,两个处理子房壁、珠被绒毡层和胚乳细胞的结构与前3个时期明显不同。低密度处理的子房壁和黑层可能已退化消失,低倍显微镜下仅能观察到其胚乳细胞;高密度处理的子房壁和黑层仍清晰可见,但其细胞的完整性已明显不如前3个时期。种植密度对胚乳细胞中淀粉粒的大小和数量的影响效应也发生显著变化,处理间表现为低密度处理的淀粉粒大且多于高密度处理。

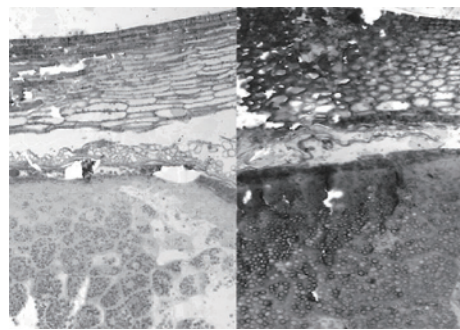


图1 授粉后15 d低密度(左)和高密度(右)处理的种皮及胚乳超微结构

Fig.1 Ultrastructures of seed coat and endosperm for lower density(left) and higher density(right) at 15 d after pollination

2.2 不同密度处理的玉米胚乳淀粉粒超微结构差异

为进一步明确胚乳中淀粉粒的形态、大小以及种植密度的影响效应,本试验在半薄定位的基础上对胚乳最外层(糊粉层)细胞和胚乳第二层细胞进行了透射电镜观察。

授粉后10 d,低密度处理的糊粉层细胞中的内

容器以线粒体和内质网居多,质体数目很少,且质体中几乎无淀粉粒;高密度处理糊粉层细胞发育相对较好,其内质网数量较少且多为小的片段。细胞中除含有丰富的线粒体外,还含有大量的油脂和少量的质体,质体膜清晰,质体中已可见淀粉粒的存在,但淀粉粒体积较小。

授粉后 15 d,两个处理糊粉层细胞中的内容物种类和数量略多于授粉后 10 d。其中,低密度处理的糊粉层细胞中已可见质体的存在,质体多呈长圆形,其中含有许多片层,但含有片层的质体中仍未见淀粉粒。细胞中的内质网数量明显减少,且多呈片段状分散在细胞中。线粒体数量仍然较为丰富,结构清晰。此期低密度处理的糊粉层细胞中已可见大大小小的脂体;高密度处理的糊粉层细胞中内容物比低密度处理明显丰富,细胞中除含有大量的脂体和线粒体外,结构清晰的质体数量也较多,质体形状较为规则,多呈圆形或椭圆形,几乎每个质体中都含有一个淀粉粒。

授粉后 20 d,低密度处理的糊粉层细胞中的质体已发育完好,大多数质体中都含有一个淀粉粒,淀粉粒几乎充满整个质体,形状较规则,多呈圆形或椭

圆形。细胞中除质体外,仍可见线粒体和质体;与低密度处理相比,高密度处理糊粉层细胞中除质体的数量更为丰富外,其细胞中质体的数量以及质体中淀粉粒的发育状况均优于低密度处理,细胞中已少见线粒体的存在。

授粉后 25 d,两个处理的糊粉层细胞的发育状况较授粉后 20 d 变化不太明显,细胞中的内容物仍以质体和含有淀粉粒的质体为主。但与前 3 个时期不同的是授粉后 25 d 时,低密度处理糊粉层细胞中淀粉粒的发育状况要优于高密度处理,这主要体现在质体中淀粉粒的数量、颜色以及剖面面积上。

2.3 淀粉粒剖面面积

随机选取授粉后 10 ~ 25 d 的 137 个玉米胚乳淀粉粒,运用 Image-pro plus 和 SPSS 软件对淀粉粒的剖面面积进行统计分析。结果表明,授粉后 25 d 之前,玉米胚乳淀粉粒的剖面面积在 0 ~ 3.36 μm^2 之间变化,大多数淀粉粒的剖面面积小于 1.00 μm^2 。其中,剖面面积在 0.28 ~ 0.56 μm^2 之间的淀粉粒数量最多,约占 24.8%;其次是 0.84 ~ 1.12 μm^2 ,占 16.8%;剖面面积大于 2.52 μm^2 的淀粉粒仅占 5.2% (表 1)。

表 1 淀粉粒剖面面积频数分布统计
Table1 The frequency statistics of starch granule section area in maize

原始值 Valid	频 数 Frequency	各组频数占总例数(%) Percent	有效百分比(%) Valid Percent	累积百分比(%) Cumulative Percent
0.00	20	14.6	14.6	14.6
0.28	34	24.8	24.8	39.4
0.56	22	16.1	16.1	55.5
0.84	23	16.8	16.8	72.3
1.12	11	8.0	8.0	80.3
1.40	9	6.6	6.6	86.9
1.68	4	2.9	2.9	89.8
1.96	4	2.9	2.9	92.7
2.24	4	2.9	2.9	95.6
2.52	1	0.7	0.7	96.4
2.80	3	2.2	2.2	98.5
3.08	1	0.7	0.7	99.3
3.36	1	0.7	0.7	100.0
总数	137			

3 结论与讨论

研究表明,在不同的植物中珠被绒毡层细胞的形态变化不一,其象是一层有效的营养层,为胚囊的发育以及胚和胚乳的早期发育提供营养物质。珠被绒毡层类似一种分泌组织,能向外分泌水解酶,消化

周围组织中的贮藏养料。在玉米种皮形态建成过程中,尚未见有关珠被绒毡层结构与功能的报道。本研究通过透射电镜观察发现,在玉米种皮形态建成过程中,内珠被细胞的结构发生了显著的变化,先是形成类似珠被绒毡层的黑层,随后黑层浓缩成黑带,直至消失。这一变化过程持续时间的长短因处理而异。

授粉后 20 d,低密度处理的黑层仍比较完整,而高密度处理的黑层已逐渐解体;授粉后 25 d,低密度处理的黑层已消失,高密度处理的黑层仍清晰可见,胚乳细胞的淀粉粒体积和数量也已转变为低密度处理大且多于高密度处理。因此,黑层解体消失的快慢可能与胚乳细胞中淀粉粒的发育密切关联,黑层降解的越快越有利于胚乳淀粉粒的积累。然而这种黑层是否就是通常所指的珠被绒毡层及其主要成分和功能还有待研究。

前人对玉米种子发育过程的形态结构变化特别是胚胎发育研究较多,有关玉米胚乳淀粉粒的形态特征报道较少。Brown 等认为,玉米淀粉粒一般直径为 7~20 μm ,形状不规则。Campbell 等报道了正常基因型淀粉粒的体积一般为 14.452~18.2 μm^3 。李敬玲等研究表明,玉米的胚乳淀粉粒多呈不规则形,排列疏松;淀粉粒的平均直径为 9.78~14.69 μm 。由于玉米淀粉粒形状的不规则性,用直径或体积很难真实地反映淀粉粒的大小。本文采用测量透射电镜下玉米淀粉粒的剖面面积的方法对其进行描述,玉米胚乳淀粉粒的剖面面积在 0~3.36 μm^2 之间,大多数淀粉粒的剖面面积小于 1.00 μm^2 。其中,剖面面积在 0.28~0.56 μm^2 之间的淀粉粒数量最多,约占 24.8%;其次是 0.84~1.12 μm^2 ,占 16.8%;剖面面积大于 2.52 μm^2 的淀粉粒仅占 5.2%。

采用不同的研究方法所揭示的玉米淀粉粒的大小不同。淀粉粒的形态、结构和大小等特征以及淀粉粒的大小与玉米淀粉含量的关系等问题还有待于进一步系统研究。

参考文献:

- [1] 郭庆法,王庆成,汪黎明. 中国玉米栽培学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2004.
- [2] 段民孝,赵久然,王元东,等. 玉米子粒淀粉研究进展[J]. 玉米科学,2002,10(1):29-32.
- [3] Commuri P D, Jones R J. High temperatures during endosperm cell division in maize: A genotypic comparison under In vitro and Field conditions[J]. Crop Science, 2001, 41: 1122-1130.
- [4] Wang Y J, White P, Pollak L, et al. Characterization of starch structures of 17 maize endosperm mutant genotypes with Oh43 inbred line background[J]. Cereal Chem., 1993(a), 70: 171-179.
- [5] Campbell M R, Li J, Berke T G, et al. Variation of starch granule size in tropical maize germ plasm[J]. Cereal Chemical., 1996, 73: 536-538.
- [6] Wilson J A, Glover D V, Nyquist W E. Genetic effects of the soft starch (h) and background loci on volume of starch granules in five maize inbreds[J]. Plant Breed., 2000(a), 119: 173-176.
- [7] Wilson J A, Glover D V, Nyquist W E. Effect of dosage at the soft starch (h) locus on maize starch granule volume[J]. Plant Breed., 2000(b), 119: 177-178.
- [8] Gutierrez O A, Campbell M R, Glover D V. Starch particle volume in single- and double-mutant maize endosperm genotypes involving the soft starch (h) gene[J]. Crop Science, 2002, 42: 355-359.
- [9] 李敬玲,贾敬鸾,刘敏,等. 多胞质玉米胚乳淀粉粒性状的扫描电镜观察[J]. 遗传学报,1999,26(3):249-253.
- [10] 许崇香,王红霞,左淑珍,等. 密度对中早熟高淀粉玉米品种淀粉产量的影响[J]. 玉米科学,2005,13(2):97-98,101.
- [11] Kapil R N, Tiwari S. The integumentary tapetum[J]. Bot. Rev., 1978, 44: 457-490.
- [12] Wang Z, Gu Y J, et al. Comparison of caryopsis development between two rice varieties with remarkable difference in grain weights[J]. Acta Botanica Sinica, 2004, 46(6): 698-710.
- [13] 高荣岐,董树亭,胡昌浩,等. 高产夏玉米子粒形态建成和营养物质积累与粒重的关系[J]. 山东农业大学学报,1993,24(1):42-48.
- [14] 王晓燕,高荣岐,董树亭. 玉米胚乳发育研究进展[J]. 中国农学通报,2005,21(6):107-109.
- [15] 王璞,魏亚萍,陈良才. 玉米子粒库容潜力研究进展[J]. 玉米科学,2002,10(1):46-49.
- [16] 范仲学,王璞,梁振兴. 玉米胚乳细胞发育研究进展[J]. 核农学报,2001,15(2):121-124.
- [17] 冯九焕,徐雪宾,刘向东,等. 玉米胚胎发育、萌发与胚的结构及子叶二型性[J]. 植物学报(英文版),2003,45(6):712-723.
- [18] 杨引福,李向拓,谢恩魁. 不同硬质度胚乳奥帕克-2(o2)玉米子粒超微结构与品质性状的相关研究[J]. 中国农业科学,2005,38(1):59-63.

(责任编辑:张英)