

文章编号: 1005-0906(2013)01-0064-05

# 氮肥对玉米子粒淀粉粒形态及分布的影响

崔丽娜<sup>1,2</sup>, 董树亭<sup>1</sup>

(1. 山东农业大学农学院/作物生物学国家重点实验室, 山东 泰安 271018; 2. 德州市农业局, 山东 德州 253000)

**摘要:** 以郑单 958 为材料, 分析不施氮(N0)、施纯氮 103.5 kg/hm<sup>2</sup>(N1)、207 kg/hm<sup>2</sup>(N2)、310.5 kg/hm<sup>2</sup>(N3) 对玉米子粒淀粉粒形态及分布特征的影响。结果表明, 不同处理玉米子粒淀粉粒直径分布均为三峰曲线。>2 μm 淀粉粒的直径百分比最大(96%~97%), 淀粉粒直径均值为 N2>N3>N0>N1 处理。各处理淀粉粒直径下限均值为 0.375 μm; 淀粉粒直径上限均值为 N2>N0>N3>N1 处理。由透射电镜扫描图得知, 第一层细胞质体大小及淀粉粒数量说明其细胞发育进程 N0<N1<N2<N3; 第二层细胞各处理均出现含淀粉粒质体, 已不见蛋白体等质体, 淀粉粒发育进程 N0>N1>N2>N3; 第三层细胞均为长条形, 各处理含皱褶淀粉粒均已出现, 淀粉粒发育进程 N1>N0>N2>N3; 深层细胞淀粉粒均有褶皱, 说明其发育早于第三层细胞。淀粉粒发育由内而外, 氮肥可以调节胚乳淀粉粒分布及淀粉粒发育速度。

**关键词:** 玉米; 密度; 氮肥; 子粒淀粉粒

中图分类号: S513.01

文献标识码: A

## Effects of Application Nitrogen on Maize(*Zea mays L.*) Grain Starch Morphogenesis and Size Distribution

CUI Li-na<sup>1,2</sup>, DONG Shu-ting<sup>1</sup>

(1. Agronomy College, Shandong Agricultural University/ State Key Lab. of Crop Biology, Tai'an 271018;

2. Dezhou Agricultural Bureau, Dezhou 253000, China)

**Abstract:** Zhengdan958 was used to study the starch granule size distribution and transmission electron microscopy showing the starch granule arrangement in grains of different endosperm application nitrogen by laser diffraction grain size analyzer, transmission electron and scanning electron. The result showed that distribution of starch granules volume of grain in the different was triple humped curve. The proportion of volume of diameter higher than 15 μm was the most(96%~97%). The average diameter of volume showed the following regulations: N2>N3>N0>N1. Lower limit of starch granules diameter was 0.375 μm; upper limit of starch granules diameter showed the following regulations: N2>N0>N3>N1. The size of plastid and the number of starch granules illuminated development of the first layer endosperm cell by transmission electron microscopy: N0<N1<N2<N3. And development of the first layer endosperm cell in N1, N2 and N3 was better than N0. There were starch granules in plastids in the second layer endosperm cell and none of other plastid such as protein body, which illuminated that development of the second layer endosperm cell was earlier than the first cell. Development of the second layer endosperm cell: N0>N1>N2>N3. Drape starch granules were detected in the third layer endosperm cell of different treatment, which illuminated development of the third layer endosperm cell was earlier than the second cell. The drape starch granules showing development of the third layer endosperm cell: N1>N0>N2>N3. Drape starch granules were detected in the deep layer endosperm cell of different treatment, which illuminated development of the deep layer endosperm cell was earlier than the third cell. In brief, the starch was accumulated from the inside to outside of the maize endosperm. And starch granule development and the starch granule size distribution in maize could be regulated by application nitrogen.

**Key words:** Maize(*Zea mays L.*); Density; Nitrogen; Grain starch granule

收稿日期: 2012-07-13

基金项目: 国家自然科学基金(31171497, 30871476)、玉米现代产业技术体系(nhyzx07-003)、国家重大基础研究(2011CB100105)

作者简介: 崔丽娜(1981-), 女, 山东泰安人, 博士, 主要从事玉米高产与品质研究。E-mail:cuilina2008@163.com

董树亭为本文通讯作者。E-mail: stdong@sdaau.edu.cn

玉米是制造淀粉的重要原料之一<sup>[1]</sup>。淀粉占玉米子粒干重的70%左右,主要以淀粉粒的形式存在于子粒胚乳中,淀粉粒大小分布是淀粉重要的品质性状之一,玉米淀粉粒形态存在显著的基因型差异<sup>[2~4]</sup>,不同大小的淀粉粒对淀粉特性有显著影响。研究玉米子粒淀粉粒的分布特性有助于揭示玉米淀粉品质差异<sup>[5]</sup>。玉米子粒胚乳淀粉粒的直径一般为7~25 μm,形状不规则,平均直径在10 μm左右<sup>[6~8]</sup>。Paterson和Campbell等<sup>[9~11]</sup>报道,正常基因型淀粉粒的体积一般为14.45~18.20 μm<sup>3</sup>。玉米淀粉粒大小与淀粉颗粒的起始糊化温度、峰值糊化温度及终止糊化温度等热力学性状间存在显著正相关性<sup>[12]</sup>,大淀粉粒所含的直链淀粉含量高于小淀粉粒,且粒度分布差异对淀粉的理化特性有重要影响<sup>[13]</sup>。

前人对玉米子粒淀粉粒的研究多集中在淀粉粒的分布及其与玉米子粒理化性质的关系以及密度对玉米种皮的形态建成过程、胚乳淀粉粒超微结构等方面<sup>[14]</sup>。有关追施氮肥对玉米子粒淀粉粒形态及分布的影响未见报道。追施氮肥是影响玉米生长发育及产量形成最重要的栽培因素。本试验利用郑单958为材料,设立4个不同氮肥处理,研究追施氮肥对淀粉粒形态及分布的影响,通过对形态及分布的分析,进一步探讨追施氮肥对淀粉粒分布及形态的差异,为玉米淀粉品质的内在原因提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地区概况

试验于2010~2011年在山东农业大学教学基地玉米科技园进行,为玉米连作区。该试验地位于东经117°9',北纬36°9',属暖温带大陆性半湿润季风气候区。供试土壤类型为简育湿润淋溶土,玉米播种前0~20 cm土层有机质含量13.76 g/kg,全氮1.04 g/kg,碱解氮79.65 mg/kg,速效磷74.86 mg/kg,速效钾97.55 mg/kg,pH值7.40。

### 1.2 试验设计

田间试验设4个施氮水平,分别为不施氮(对照)和施纯N103.5、207、310.5 kg/hm<sup>2</sup>,分别用N0、N1、N2、N3表示,3次重复,随机排列。所用氮肥为尿素(含N45%),全部追施。各处理均施复合肥(N-P-K:16-16-16)300 kg/hm<sup>2</sup>,全部基施。

供试品种为郑单958。2010年玉米播种期为6月11日,收获期为10月7日,玉米生育期的降水量为190.6 mm,灌水量150.0 mm(分2次灌溉);2011年玉米播种期为6月7日,收获期为10月5日,玉米生育

期降水量为187.3 mm,灌水量150 mm(分2次灌溉)。小区长5 m,宽2.7 m,种植密度均为75 000株/hm<sup>2</sup>。

### 1.3 测试项目与方法

#### 1.3.1 淀粉粒提取及测定

参照Peng和Malouf等<sup>[15,16]</sup>的方法提取淀粉粒。取15粒玉米子粒(穗中部)在40 mL浓度为0.5 mol/L的NaCl溶液中浸泡16 h后剥去种皮,去掉胚乳,在研钵中研成匀浆;再用200 μm筛布过滤,固体部分继续研磨过滤,重复3次。将淀粉匀浆在4 000 r/min离心5 min,去上清液,加25 mL浓度为2 mol/L的NaCl,旋涡混合,在4 000 r/min再离心,去上清液,然后分别加2% SDS、2% NaOH溶液及蒸馏水,匀浆后再离心,重复4次,再用丙酮清洗1次,然后风干,贮存于-20℃备用。

参照Massaux等方法测定淀粉粒分布,用贝克曼库尔特公司的LS13320激光衍射粒度分析仪分析淀粉粒。取50 mg淀粉放入离心管,加10 mL蒸馏水悬浮,旋涡混匀后置4℃下1 h,每10 min振荡1次,然后转移至激光衍射粒度分析仪的分散盒中,测量其分布状况。

#### 1.3.2 淀粉粒透射电镜及扫描电镜观测

取人工授粉的玉米(授粉后20 d)穗部子粒,切取顶部子粒,横切面用4%戊二醛前固定,磷酸缓冲液冲洗;再用1%锇酸后固定,乙醇梯度脱水,Epon-812(环氧树脂)浸透与包埋。瑞典LKB-7800型超薄切片机切片,切片厚0.6 μm。一部分材料重新建断层后喷金属粉,利用日本JSM-660LV扫描电镜观察照相;另一部分材料在定位后用醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色,日本JEM-1200EX型透射电镜下观察照相,用于淀粉粒超微结构研究。

### 1.4 数据处理与分析

采用Excel 2000及DPS7.05数据处理系统进行数据统计与分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米淀粉粒直径分布特征

由表1可知,各处理>2 μm淀粉粒直径所占百分比最大,为96%~97%;>15 μm淀粉粒直径所占百分比大小为N3>N2>N0>N1。不同处理郑单958玉米子粒淀粉粒直径分布为三峰曲线,其峰值位点的分界点差异不大,主要集中在1.919、5.355、18.000 μm处。

### 2.2 玉米淀粉粒粒度分布特征

由表2可知,不同追氮处理淀粉粒直径均值依

次为 N<sub>2</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>0</sub>>N<sub>1</sub>; 各处理淀粉粒直径的下限值一致, 均为 0.375 μm; 上限值差异较大, 淀粉粒直径上

限值依次为 N<sub>2</sub>>N<sub>0</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>1</sub>。

表 1 不同处理玉米淀粉粒直径分布

Table 1 Starch granule volume distribution in different treatments

处 理 Treatment	淀粉粒直径所占百分比 Diameter of starch granule					%
	<0.6 μm	0.6~1 μm	1~2 μm	2~15 μm	>15 μm	
N <sub>0</sub>	0.320 ± 0.003	1.480 ± 0.059	4.820 ± 0.091	37.70 ± 1.327	55.67 ± 2.613	
N <sub>1</sub>	0.347 ± 0.011	1.670 ± 0.067	4.967 ± 0.219	41.17 ± 1.564	51.87 ± 1.981	
N <sub>2</sub>	0.280 ± 0.012	1.270 ± 0.029	6.573 ± 0.223	31.94 ± 1.112	59.87 ± 2.664	
N <sub>3</sub>	0.270 ± 0.009	1.437 ± 0.047	4.507 ± 0.119	33.45 ± 1.374	60.33 ± 2.167	

表 2 不同处理玉米淀粉粒粒度分布特征

Table 2 Characters of starch granule distribution in different treatments

淀粉粒直径 Diameter of starch granule	N <sub>0</sub>	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	μm
均 值	15.05	14.09	16.63	16.02	
上 限	36.24	24.95	63.42	30.07	

### 2.3 玉米淀粉粒透射图

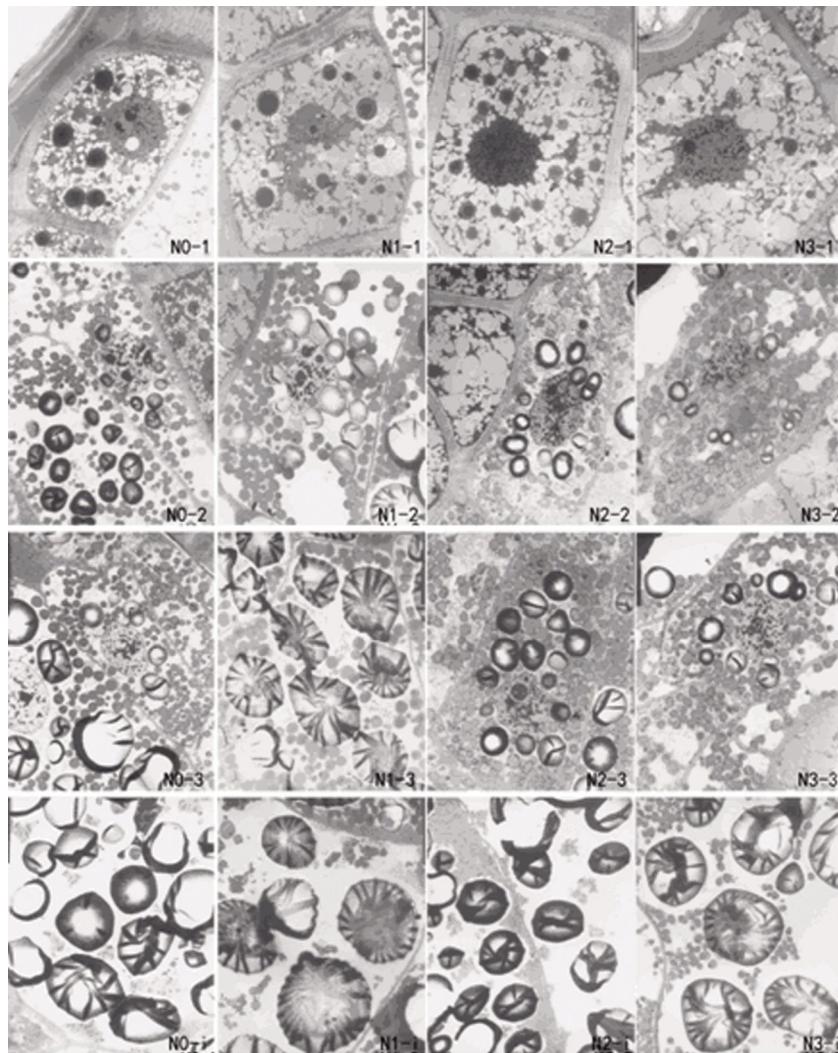
在不同追肥条件下, 其胚乳发育速度不同, 最外层细胞即第一层细胞的剖面面积大小有明显差异, N<sub>0</sub><N<sub>1</sub><N<sub>2</sub><N<sub>3</sub> 处理。N<sub>0</sub> 条件下, 细胞内液泡含有大的蛋白质体, 液泡数量很大, 脂体数量丰富, 有少量内含淀粉粒的质体; N<sub>1</sub> 条件下, 细胞内液泡含有大小不一的蛋白体, 含有较大量液泡, 有极少量内含淀粉粒的质体; N<sub>2</sub> 条件下, 细胞内液泡含有较小的蛋白体, 液泡数量较少, 未见内含淀粉粒的质体; N<sub>3</sub> 条件下, 细胞内液泡含有较小且数量较少的蛋白体, 液泡数量较少, 未见内含淀粉粒的质体。细胞中蛋白质体的大小依次为 N<sub>0</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>2</sub>>N<sub>3</sub>; 蛋白质体的数量依次为 N<sub>2</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>0</sub>。第一层细胞中含淀粉粒质体的数量为 N<sub>0</sub>>N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub> 及 N<sub>3</sub> 在第一层细胞中未出现含淀粉粒的质体; 第一层细胞内液泡含量依次为 N<sub>0</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>2</sub>。第一层细胞质体的大小及淀粉粒的数量说明其细胞的发育依次为 N<sub>0</sub><N<sub>1</sub><N<sub>2</sub><N<sub>3</sub>, 说明最外层细胞淀粉粒的发育状况追氮处理要优于不追氮处理。

第二层细胞的剖面面积大小不同, 依次为 N<sub>1</sub><N<sub>3</sub><N<sub>2</sub><N<sub>0</sub>; 淀粉粒的数量依次为 N<sub>0</sub>>N<sub>2</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>1</sub>; 淀粉粒的大小依次为 N<sub>0</sub>>N<sub>2</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>3</sub>; 脂体数量依次为 N<sub>3</sub>>N<sub>2</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>0</sub>。N<sub>0</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub> 及 N<sub>3</sub> 条件下第二层细胞为长条形。不同追氮条件下, 第二层细胞含有大量已发育的淀粉粒及脂体。N<sub>0</sub> 及 N<sub>1</sub> 条件下, 第二层细胞淀粉粒已有明显的褶皱花纹, N<sub>0</sub> 条件下细胞核周围出现淀粉粒, 脂体数量极少, 内含物数量极少, 细胞两端出现了大量不含内含物的部位; N<sub>1</sub> 条

件下细胞核周围出现大量淀粉粒, 脂体数量相对较多, 内含物数量少, 第二层细胞中出现了大量不含内含物的部位; N<sub>2</sub> 条件下细胞核周围出现了大量淀粉粒, 脂体数量增加, 内含物数量增加; N<sub>3</sub> 条件下细胞核周围出现了淀粉粒, 脂体丰富, 内含物丰富。第二层细胞发育早于第一层细胞的发育, 主要体现在淀粉粒发育状况, 说明第二层细胞不同氮肥处理淀粉粒发育进程依次为 N<sub>0</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>2</sub>>N<sub>3</sub>。

第三层细胞均为长条形, 细胞剖面面积的大小有明显差异, N<sub>0</sub> 处理第三层细胞最小, N<sub>1</sub> 处理最大, N<sub>2</sub> 及 N<sub>3</sub> 处理大小差异不明显。第三层细胞淀粉粒褶皱花纹多, N<sub>0</sub> 处理淀粉粒均有褶皱花纹, 有褶皱花纹淀粉粒的比例依次为 N<sub>0</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>2</sub>>N<sub>3</sub>; 第三层细胞淀粉粒的数量依次为 N<sub>2</sub>>N<sub>0</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>1</sub>; 第三层细胞淀粉粒的大小依次为 N<sub>0</sub>>N<sub>2</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>1</sub>; 第三层细胞脂体的数量依次为 N<sub>2</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>0</sub>。由淀粉粒发育状况可知, 第三层细胞发育早于第二层细胞发育。淀粉粒的发育状况说明, 第三层细胞中淀粉粒发育状况依次为 N<sub>1</sub>>N<sub>0</sub>>N<sub>2</sub>>N<sub>3</sub>。

深层细胞淀粉粒均有褶皱, 其中, N<sub>3</sub> 及 N<sub>0</sub> 的深层细胞淀粉粒褶皱花纹较多, N<sub>2</sub> 及 N<sub>1</sub> 的深层细胞淀粉粒褶皱花纹较少。深层细胞淀粉粒的数量依次为 N<sub>2</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>0</sub>; N<sub>3</sub> 及 N<sub>1</sub> 深层细胞淀粉粒的大小相似, N<sub>1</sub> 稍大于 N<sub>3</sub>, 即淀粉粒的大小顺序依次为 N<sub>1</sub>>N<sub>3</sub>>N<sub>0</sub>>N<sub>2</sub>。胚乳深层细胞脂体的数量依次为 N<sub>3</sub>>N<sub>2</sub>>N<sub>1</sub>>N<sub>0</sub>。由淀粉粒发育状况可知, 深层细胞发育早于第三层细胞。



注:1 为第一层细胞;2 为第二层细胞;3 为第三层细胞;i 为深层细胞。

Note: 1, the first layer endosperm cell; 2, the second layer endosperm cell; 3, the third layer endosperm cell; i, the deep layer endosperm cell.

图 1 不同追肥处理玉米淀粉粒透射图(x2500)

Fig.1 Transmission electron microscopy showing the starch granule arrangement in grains of different application nitrogen(x2500)

### 3 结论与讨论

Wang 等<sup>[17]</sup>报道,玉米胚乳中淀粉的积累并非由内而外,而是由上向下、由外向内逐渐积累。高荣岐等<sup>[18]</sup>研究认为,淀粉含量随子粒发育而迅速上升,授粉后 20 d 内增加明显,30 d 后趋于缓慢增长。本试验研究表明,自授粉后 20 d 淀粉粒发育状况不同,第一层细胞在 N0、N1 条件下出现含淀粉粒的质体,N2、N3 条件下未出现,淀粉粒的发育状况追氮处理优于不追氮处理,由淀粉粒大小及数量说明其细胞的发育进程依次为 N0<N1<N2<N3; 第二层细胞中各处理均出现含淀粉粒质体,已不见蛋白体等质体,说明第二层细胞发育早于胚乳第一层细胞,不同氮肥处理淀粉粒发育进程依次为 N0>N1>N2>N3; 第三

层细胞均为长条形,各处理含皱褶的淀粉粒均已出现,说明第三层细胞发育早于第二层细胞的发育,淀粉粒发育状况依次为 N1>N0>N2>N3; 深层细胞淀粉粒均有褶皱,说明深层细胞发育早于第三层细胞。以上结果表明,淀粉粒由胚乳内层向外层发育。淀粉粒形成初期,不同处理玉米淀粉粒的形态差异不大,而在后期的发育中淀粉粒形态发生了很大变化。随发育的进行,内层淀粉粒发育完成,淀粉粒的形态各异,具有独特的特征,且排布也发生了显著差异。

前人对淀粉粒的描述主要利用了直径和体积来描述。Brown 等认为,玉米淀粉粒直径一般为 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<sup>3</sup>。本试验通过淀粉粒直径及透射电镜对淀粉粒进行描述,不同

追氮处理淀粉粒直径均值依次为 N2>N3>N0>N1。由透射电镜表观大小得知, 淀粉粒的大小顺序依次为 N1>N3>N0>N2。各处理淀粉粒透射图不同, 分布及外形存在明显差异, 淀粉粒发育由内而外, 不同处理玉米胚乳各层发育进程不同, 各层发育的次序也不是一一对应, 即淀粉粒发育过程中各层发育既相互联系又具有各自发育的特征。追氮处理淀粉粒发育早, 持续时间长, 更有利于淀粉粒的发育及积累。发育过程中淀粉粒表观大小与淀粉粒最终的体积及上限也不是对应关系。

#### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国农业部标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [2] Ji Y, Wong K, Hasjim J, et al. Structure and function of starch from advanced generation of new corn lines[J]. Carbohydr Polym, 2003, 54: 305–319.
- [3] Ji Y, Seetharaman K, Wong K, et al. Thermal and structure properties of unusual starches from developmental corn lines[J]. Carbohydr Polym, 2003, 51: 439–450.
- [4] 侯汉学, 董海洲, 宋晓庆, 等. 不同品种玉米淀粉的理化性质及相关性研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(1): 60–64.
- [5] 陆大雷, 郭换粉, 董 策, 等. 生长季节对糯玉米淀粉晶体结构和糊化特性的影响[J]. 作物学报, 2010, 36(11): 1998–2003.
- [6] 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 Chemistry, 1993, 70: 171–179.
- [7] Paterson J L, Hardacre A, Li P, et al. Rheology and granule size distribution of corn starch dispersions from two genotypes and grown in four regions[J]. Food Hydrocolloids, 2001, 5: 53–459.
- [8] 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(3): 249–253.
- [9] Brown R P, Creech R G, Johnson L J. Genetic control of starch granule morphology and physical structure in developing maize endosperm[J]. Crop Science, 1971, 11: 297–302.
- [10] 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.
- [11] 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, 119: 173–176.
- [12] Knutson C A, Khoo U, Cluskey J E, et al. Variation in enzyme digestibility and gelatinization behavior of corn starch granule fractions [J]. Cereal Chemistry, 1982, 59: 512–515.
- [13] 吴 俊, 谢守和. 玉米淀粉的粒度效应对其糊化行为影响研究 [J]. 中国粮油学报, 2006(1): 51–54.
- [14] 王庆成, 刘 霞, 李宗新, 等. 种植密度对玉米种皮形态建成及胚乳淀粉粒发育的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(8): 2506–2512.
- [15] Peng M, Gao M, Abdel-Aal E S M, et al. Separation and characterization of A-and B-type starch granules in wheat endosperm[J]. Cereal Chemistry, 1999, 76: 375–379.
- [16] Malouf R B, Hoseney R C. Wheat hardness. I. A method to measure endosperm tensile strength using tablets made from flour[J]. Cereal chem., 1992, 69: 164–168.
- [17] Wang Z, Gu Y J, Hirasawa T, 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.
- [18] 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.

(责任编辑:胡娟)