

## 超黑糯玉米籽粒发育过程中色素积累的动态变化

李桂萍<sup>1</sup>, 周丽娟<sup>1</sup>, 蔡士兵<sup>2</sup>, 巴青松<sup>1</sup>

(1. 淮北师范大学生命科学学院, 安徽 淮北 235000; 2. 安徽濉溪农业科学研究所, 安徽 濉溪 235100)

**摘要:** 为探明超黑糯玉米籽粒发育过程中黑色素的积累规律, 以超黑糯玉米自交系 I46 和白糯玉米自交系 BN13 杂交 F<sub>2</sub> 群体中性状为黑糯(黑糯 27)和白糯(白糯 66)为材料, 通过显微观察、类胡萝卜素含量以及花色苷含量的测定, 研究超黑糯玉米籽粒发育过程中黑色素的积累及类胡萝卜素和花色苷的变化规律。结果表明: 超黑糯玉米籽粒黑色素主要分布于果种皮中, 而糊粉层没有黑色素分布, 随着籽粒的发育, 黑色素从籽粒远胚端开始沉积直至分布到整个籽粒; 在黑糯 27 玉米籽粒发育过程中, 类胡萝卜素的含量随着发育时间的推进呈总体下降的趋势, 花色苷含量则随着籽粒发育的推进先上升, 直到 30 d 时达到最大值, 随后出现下降趋势; 在白糯 66 籽粒发育过程中, 籽粒没有黑色素的沉积, 类胡萝卜素含量呈先上升后下降趋势, 在整个籽粒发育过程中没有检测到花色苷的含量。

**关键词:** 超黑糯玉米; 黑色素; 类胡萝卜素; 花色苷

中图分类号: S513.01 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2016)01-0006-05

## Regularity of pigment accumulation in the grain development progress of super black waxy corn

Li Guiping<sup>1</sup>, Zhou Lijuan<sup>1</sup>, Cai Shibing<sup>2</sup>, Ba Qingsong<sup>1</sup>

(1. School of Life Science, Huaibei Normal University, Huaibei, Anhui 235000, China; 2. Suixi Agricultural Research Institute of Anhui, Suixi, Anhui 235100, China)

**Abstract:** In this study, Heinuo 27 and Bainuo 66 from F<sub>2</sub> generation of super black waxy corn inbred lines I46 crossed white waxy corn inbred lines BN13 were selected to study the distribution and accumulation regularity of maize pigment in grains by microscopic observation, solvent extraction method and spectrophotometry. The results showed that the pigment of super black waxy corn existed in seed coat, which appeared from the top of kernels and then spread to the whole grain. With the development of grains of Heinuo 27, the content of carotenoid decreased gradually, however, the content of anthocyanin increased until it reached the maximum value on the 30th day after pollination and then decreased. With the development of grains of Bainuo 66, there was no melanin in the grains and the contents of carotenoid increased first and then dropped, however, the anthocyanin was not detected in the whole grain development process.

**Keywords:** super black waxy corn; pigment; carotenoid; anthocyanin

糯玉米在中国有着悠久的种植历史, 籽粒颜色有黑、白、红、紫、黄之分<sup>[1-2]</sup>。黑糯玉米含有丰富的天然黑色素, 其黑色素具有很好的抗氧化, 清除自由基, 抗突变, 抗肿瘤等功能。近年来, 随着人们生活水平和对健康要求的不断提高, 黑糯玉米倍受消费者青睐<sup>[3-4]</sup>。

“超黑糯玉米”是由安徽省濉溪县农科所特种玉米课题组蔡士兵等首次提出, 并于 1999 年成功地将秘鲁和美国普通黑玉米的特殊黑色遗传性状导入到其自育的、具有优良农艺性状和优良品质的普通黑糯玉米自交系中, 经过多年的杂交育种, 培育了濉黑糯 1 号、2 号、3 号系列等多个超黑糯玉米

新品种<sup>[5-7]</sup>。该类品种营养丰富,天然黑色素和微量元素硒含量也明显高于普通黑糯玉米,籽粒果皮及穗轴中黑色素含量高达 7%以上。黑色素的主要化学组分为花色苷。研究<sup>[8-10]</sup>表明,花色苷类物质具有抗变异、抗肿瘤、抗过敏、降血脂、保护胃黏膜等多种生物活性功能,故超黑糯玉米具有较高的营养和保健价值。

目前,关于籽粒色素积累规律的研究主要围绕小麦和普通黑糯玉米展开。崔丽娜等<sup>[11]</sup>以 4 种颜色的玉米为材料研究了不同基因型玉米籽粒色素的积累规律;崇学凤等<sup>[12]</sup>研究了紫色小麦籽粒发育过程中色素含量的动态变化;宋伟等<sup>[13]</sup>研究了导入外源 DNA 后产生的有色小麦籽粒发育过程中籽粒色素动态变化,而关于超黑糯玉米籽粒发育过程中籽粒色素存在的部位以及积累变化的规律报道较少。目前,有关超黑糯玉米的研究主要集中在色素的提取方法、理化性质研究<sup>[14-16]</sup>、色素的医疗保健价值等方面<sup>[17-19]</sup>。

本研究以超黑糯玉米自交系 I46 和白糯玉米自交系 BN13 杂交 F<sub>2</sub> 群体中性状为黑糯和白糯的个体为材料,通过显微观察、有机溶剂提取和分光光度法研究了超黑糯玉米籽粒发育过程中黑色素的积累部位及类胡萝卜素和花色苷的变化规律,旨在揭示超黑糯玉米色素的形成机制,为超黑糯玉米的开发利用以及品种选育等提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

以超黑糯玉米自交系 I46 与白糯玉米自交系 BN13 杂交,得到 F<sub>1</sub> 代;F<sub>1</sub> 代种子种植于大田,套袋自交,获得 F<sub>2</sub> 代;在 F<sub>2</sub> 群体中,选取性状为黑糯和白糯的个体分别套袋自交。本研究使用的 F<sub>2</sub> 代黑糯和白糯个体分别为黑糯 27 和白糯 66。

### 1.2 方法

黑糯 27 和白糯 66 分别套袋自交。授粉后第 10 天开始取样,取果穗中上部大小均匀的籽粒,按纵向排列的方向,从果穗上 1 列籽粒中取 15 粒,每隔 4 d 取样 1 次,连续取 6 次。取好的籽粒,一部

分放在固定液中保存;另一部分放在 -80℃ 冰箱中保存,备用。

### 1.3 测试项目与方法

1) 玉米籽粒颜色的形成。选取色泽均匀的不同发育时期的籽粒 2 粒,观察籽粒颜色的变化并拍照。

2) 玉米籽粒色素存在部位观察。取固定液中保存的色泽均匀的玉米籽粒,纵切成 0.1~0.2 mm 的薄片,在奥林巴斯 BX51 显微镜下观察并拍照。

3) 色素组成及含量测定。选取色泽均匀的籽粒,参照孙群等<sup>[14]</sup>的方法提取色素并进行一些改良,具体如下:称 0.5 g 籽粒于研钵中,冰浴研磨,用无水乙醇和丙酮混合溶液(体积比 1:1)进行色素提取,料液比 1:5,45℃ 下暗处浸提,浸提液经 PTFE 0.22 μm 的滤膜过滤,用乙醇-丙酮溶液定容至 50 mL。以浸提液作为空白对照,用美国瓦里安 Cary50 紫外分光光度计在 663、645、470 nm 处测定吸光值,重复 3 次。类胡萝卜素含量(*Car*)按下列公式计算: $Car = 8.73D_{470} + 2.11D_{663} - 9.06D_{645}$ 。残渣用盐酸-甲醇溶液(体积比为 1:99)于暗处浸提花色苷,浸提 3 次,定容至 50 mL,用紫外分光光度计在 400~700 nm 范围内扫描其最大吸收峰,并记录吸光值。

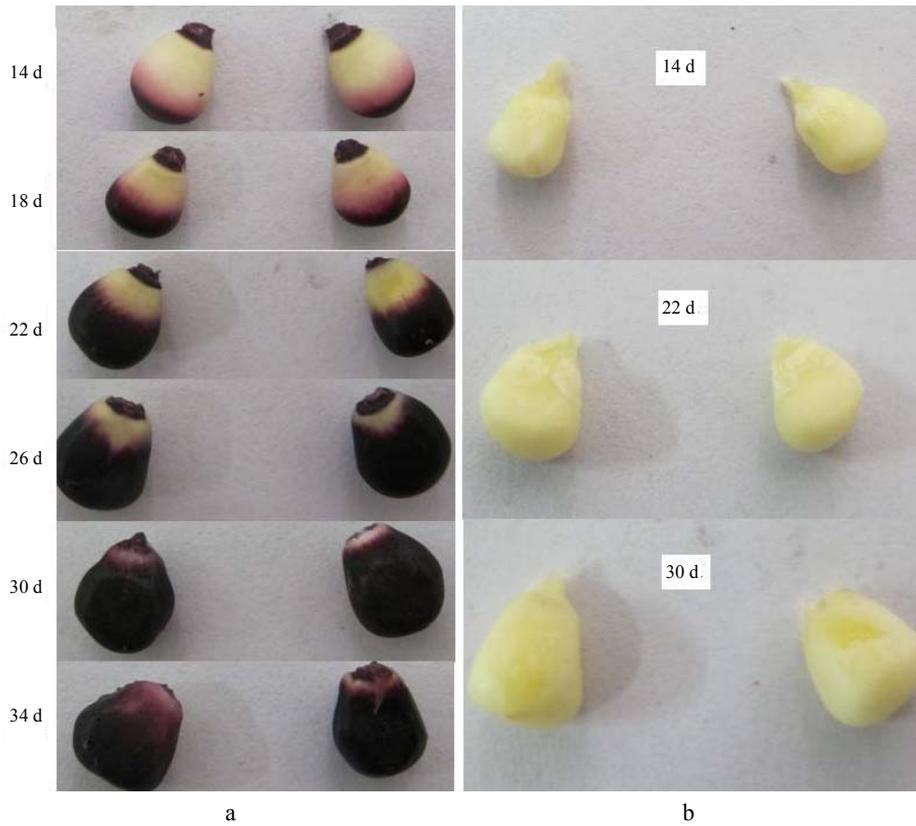
### 1.4 数据分析

所有数据用 Microsoft Excel 2007 整理。

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米籽粒发育过程中颜色的形成

通过对授粉后不同发育时期玉米籽粒的观察,发现黑糯 27 籽粒黑色素是随籽粒发育而逐渐沉积的。具体表现为在授粉后 14 d,籽粒的远胚端开始沉积少量的黑色素,到授粉后 34 d,黑色素已经充满了籽粒所有部位(图 1-a)。与普通黑糯玉米不同的是,超黑糯玉米籽粒的胚端从发育初期就已经有黑色素沉积了,而普通黑糯玉米的籽粒胚端没有色素分布<sup>[11]</sup>,白糯 66 的籽粒在整个发育阶段都没有黑色素沉积(图 1-b)。



a 黑糯 27; b 白糯 66。

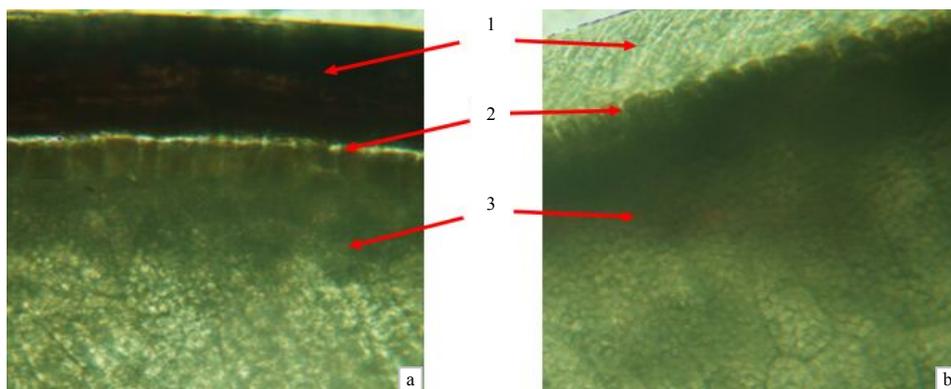
图 1 玉米籽粒发育过程中颜色的动态变化

Fig. 1 Dynamic changes of color during development progress of maize seeds

### 2.2 超黑糯玉米黑色素沉积部位的确定

对 2 种材料的籽粒切片进行显微观察,发现黑糯 27 黑色素存在于籽粒果种皮中,而紧贴着种皮内侧排列整齐的糊粉层无色透明(图 2-a),这与已有

研究报告中普通黑糯玉米黑色素分布在糊粉层有所不同。而白糯 66 从种皮到糊粉层部位都没有黑色素沉积(图 2-b)。



A 黑糯 27; b 白糯 66; 1 果皮; 2 糊粉层; 3 淀粉层。

图 2 黑糯玉米籽粒色素分布(×20, 授粉后 28 d)

Fig. 2 Distribution of pigment in the seeds of black waxy corn (×20, the 28th day after pollination)

### 2.3 类胡萝卜素的积累规律

不同发育时期玉米籽粒类胡萝卜素的含量列于表 1。从表 1 可以看出,白糯 66 号与黑糯 27 号籽粒发育过程中的类胡萝卜素含量变化趋势有所

不同。在籽粒发育的同一时期,白糯 66 号玉米籽粒中类胡萝卜素的含量明显低于黑糯 27 籽粒中类胡萝卜素的含量。在白糯 66 号籽粒发育的前期,类胡萝卜素含量呈上升的趋势,22 d 时达到峰值

(0.049 6 mg/L), 之后类胡萝卜素含量逐渐下降至 0.017 3 mg/L。在黑糯 27 籽粒发育过程中, 类胡萝卜素含量呈下降的趋势, 在籽粒发育初期类胡萝卜

素含量最高, 为 0.115 8 mg/L, 籽粒发育末期, 类胡萝卜素含量最低, 为 0.037 2 mg/L。

表 1 不同发育时期玉米籽粒类胡萝卜素的含量

Table 1 Content of seed carotenoid in maize at different stages

供试材料	类胡萝卜素含量/(mg·L <sup>-1</sup> )						
	10 d	14 d	18 d	22 d	26 d	30 d	34 d
黑糯 27	0.115 8	0.097 5	0.094 4	0.093 1	0.093 0	0.072 9	0.037 2
白糯 66	0.015 1	0.029 4	0.036 9	0.046 9	0.026 9	0.019 9	0.017 3

## 2.4 花色苷的积累规律

不同发育时期玉米籽粒花色苷的光密度和吸收峰波长分别列于表 2、表 3。从表 2 可以看出, 在白糯 66 号籽粒发育过程中没有检测到花色苷的存在, 黑糯 27 籽粒发育过程中花色苷的变化趋势与类胡萝卜素的不同, 在籽粒发育的前期和中后

期, 随着籽粒的发育花色苷呈明显上升的趋势, 并于第 30 天花色苷吸光值达到峰值(0.519), 在籽粒发育末期 30~34 d 内花色苷含量明显下降。从表 3 可以看出, 黑糯 27 玉米籽粒花色苷吸收峰随时间而变化, 说明花色苷的组成在发生变化。

表 2 不同发育时期玉米籽粒花色苷的光密度

Table 2 Absorption value of anthocyanin in maize at different stages

供试材料	光密度						
	10 d	14 d	18 d	22 d	26 d	30 d	34 d
黑糯 27	0	0.011 1	0.249 5	0.360 5	0.415 5	0.519 0	0.206 3
白糯 66	0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0

表 3 黑糯 27 籽粒不同时期花色苷的吸收峰波长

Table 3 Absorption peak's wavelength of anthocyanins of Heinuo 27 at different stages

供试材料	吸收峰波长/nm						
	10 d	14 d	18 d	22 d	26 d	30 d	34 d
黑糯 27	0	510.0	519.9	519.9	525.1	525.1	519.9

## 3 结论与讨论

崔丽娜等<sup>[11]</sup>在研究不同基因型玉米籽粒类胡萝卜素与花色苷色素积累规律时发现, 黑糯玉米的黑色素存在于糊粉层, 花色苷含量在黑糯玉米授粉后 40 d 达到最大值。本研究结果表明, 黑糯 27 在授粉后 30 d 黑色素即达到最大值。冉颖霞等<sup>[18]</sup>、蔡士兵等<sup>[20]</sup>的研究发现, 超黑糯玉米比普通黑糯玉米转色早, 粒色深, 黑色素含量也明显高于普通黑糯玉米。其籽粒形成时即呈深紫黑色, 尤其是籽粒果种皮和穗轴中水溶性天然黑色素含量高, 稳定性好, 具有更高的营养价值和药用价值。本研究结果表明, 超黑糯玉米黑色素主要存在于果种皮中, 糊粉层没有黑色素沉积。在玉米籽粒发育过程中, 白糯 66 的类胡萝卜素含量呈先上升后下降的趋势, 在整个籽粒发育时期, 都没有检测到花色苷的存

在。黑糯 27 随着籽粒发育天数的增加, 其类胡萝卜素含量呈下降趋势; 在发育过程中花色苷的含量先上升, 到 30 d 达到最大值, 后出现下降趋势。黑糯 27 在籽粒发育末期花色苷含量下降的原因可能是后期与花色苷合成有关的酶活性降低, 或者是花色苷的含量与类胡萝卜素的合成与降解有关, 还可能与籽粒中糖与淀粉的合成有关, 具体原因有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 王义发, 汪黎明, 沈雪芳, 等. 糯玉米的起源、分类、品种改良及产业发展[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007, 33(增刊): 97-102.
- [2] 沈雪芳, 王义发, 罗红兵, 等. 鲜食糯玉米主要农艺性状的双列杂交分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2010, 36(6): 609-612.
- [3] 马越, 赵晓燕, 徐亚民. 黑玉米的营养价值与保健作

- 用[J]. 营养健康, 2006, 27(9): 115-117.
- [4] 王金亭. 天然黑玉米色素研究与应用进展[J]. 粮食与油脂, 2013, 26(2): 44-49.
- [5] 蔡士兵, 卓越, 魏平民, 等. 超级黑糯玉米杂交种黑玫瑰1号的选育及应用[J]. 玉米科学, 2004(12): 28.
- [6] 蔡士兵. 超级黑糯玉米育种技术初探[J]. 农业科技通讯, 2006(10): 20.
- [7] 蔡士兵. 潍黑糯2号超级黑糯玉米新品种选育与标准化栽培技术研究[J]. 玉米科学, 2007, 15(1): 75-77.
- [8] 周波, 王晓红, 陈丽丽, 等. 玉米紫色植株色素体外抗氧化活性实验研究[J]. 现代食品科技, 2007, 23(4): 23-25.
- [9] Tsuda T, Watanabe M, Ohshima K, et al. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyaniding 3-O- $\beta$ -D-glucoside and cyanidin[J]. J Agric Food Chem, 1994, 42(11): 2407-2410.
- [10] Malik M, Zhao C, Schoene N, et al. Anthocyanin-rich extract from *Aronia meloncarpa* E induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells[J]. Nutr & Cancer, 2003, 46(2): 186-196.
- [11] 崔丽娜, 高荣岐, 孙爱清, 等. 不同基因型玉米籽粒类胡萝卜素与花色苷色素积累规律[J]. 作物学报, 2010, 36(5): 818-825.
- [12] 崇学风, 张建奎, 王三根, 等. 紫粒小麦籽粒发育过程中色素含量的动态变化[J]. 麦类作物学报, 2008, 28(2): 307-311.
- [13] 宋伟, 孙兰珍, 类承斌, 等. 有色小麦籽粒发育过程中籽粒色素含量动态变化[J]. 麦类作物学报, 2004, 24(2): 103-105.
- [14] 孙群, 孙宝启. 黑粒小麦籽粒发育过程中籽粒色素含量动态变化[J]. 中国农业科学, 2001, 34(4): 461-464.
- [15] 杨萍, 滕艳玲. 黑糯玉米色素提取与稳定性的研究[J]. 粮油加工, 2009(10): 108-110.
- [16] 盛玮, 薛建平, 谢笔钧. 超级黑糯玉米色素提取及稳定性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(4): 103-106.
- [17] 盛玮, 薛建平, 谢笔钧. 黑糯玉米芯色素的抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(6): 85-88.
- [18] 冉颖霞, 宫坤, 周杨, 等. 超级黑糯玉米芯色素的抗肿瘤和体外抗氧化作用[J]. 安徽师范大学学报, 2012, 35(4): 351-354.
- [19] Osawa T. Functional activity of polyphenols anthocynins[J]. Foods & Food Ingred J Jpn, 2001, 192: 4-10.
- [20] 蔡士兵. 超级黑糯玉米育种方法[J]. 中国种业, 2008(9): 61.

责任编辑: 尹小红  
英文编辑: 梁和