

近红外光谱结合二维相关技术对玉米 F1 代杂交种的快速筛选

丁璐¹, 李梦婷², 刘洋¹, 朱文碧¹, 刘冬梅³, 牟美睿¹, 刘海学^{1*}

1. 天津农学院农学与资源环境学院, 天津 300384
2. 云南农业大学稻作物研究所, 云南 昆明 650201
3. 天津市第一中心医院心内科, 天津 300192

摘要 为有效筛选 F1 代玉米杂交种的优势种, 提出了一种基于近红外光谱技术和二维相关谱技术相结合的种子快速筛选方法, 以内蒙古奈曼旗当地的推广品种京科 958(JK958)作为对照, 测定了 26 个玉米品系的近红外光谱, 并对其进行聚类分析。当类间距=10 时, 26 个品系被聚成 3 类。第一类是与对照品相近的品系: JK958(对照品种), 26, 14, 489, 263 和 320 等; 第二类是 9, 542, 16, 121 以及 57 品系; 第三类是与对照品较远的品系: 317, 582, 284, 264 以及 157。一般, 若两个品系差别越小, 其自相关谱强度就越小, 反之成立。若两个品系完全相同, 理想情况下同步二维相关谱上不会出现任何特征信息, 因此可通过自相关谱强度来判别两个品系的相似程度。根据聚类分析结果, 选出了品系 14, 26, 9 和 157 进行二维相关性分析。其中, 品系 14 和 26 是在近红外光谱聚类分析与对照品种 JK958 相距较近的品系, 而 9 和 157 则与 JK958 相距较远。品系 14 和 JK958 自相关强度的范围在 0.000 0~0.000 2 a. u.; 品系 26 和 JK958 自相关强度的范围为: 0.000 00~0.000 10 a. u.; 品系 9 与 JK958 的自相关强度范围: 0.000 0~0.001 6 a. u.; 品系 157 与 JK958 的自相关强度约为 0.000 4~0.002 0 a. u.; 从自相关强度整体来看四个品系与 JK958 的自相关强度由大到小的排列顺序为 157>9>14>26, 表明: 品系 26 与对照品系 JK958 最相似。为了验证上述筛选品系方法的有效性, 将以田间实地测量的玉米 15 个主要农艺性状数据, 进行聚类分析, 并与近红外光谱和二维相关谱快速筛选的结果进行对照。研究发现: 农艺性状的聚类分析结果与近红外光谱聚类结果存在交叉(品系 320, 26, 24, 147, 109 和 263)。自相关强度为 10^{-5} 数量级的品系 26 与 JK958 距离较近, 被聚到一类; 而自相关强度为 10^{-4} 数量级的品系 14, 9 和 157 被聚为一类。农艺性状的聚类结果证实了近红外光谱和二维相关谱技术快速筛选玉米品系的有效性。研究结果表明: 近红外光谱+二维相关谱技术对玉米品系进行初步快速筛选是可行的和有效的。

关键词 近红外光谱; 二维相关谱; 不同玉米品系; 农艺性状; 聚类分析

中图分类号: S339.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)07-2235-05

引言

我国是粮食生产大国。玉米是我国重要的粮食和饲料作物, 于 2012 年成为我国产量第一的粮食作物。根据国家统计局数据显示, 2015 年我国玉米的种植面积约 3 812 万 hm^2 , 产量 2.2 亿 t, 占作物栽培总面积的 22.91%, 占作物总产量的 36.15%。玉米生产研究重要的目标之一是获得高产, 杂种优势是目前农业生产上提高产量和改进品质的重要措施之

一。但杂种优势的田间检测需要耗费大量的人力、物力和时间, 且限于条件因素的影响, 不能一次测验多个组合, 所以杂种优势的预测问题一直是育种工作者进行探求的问题之一。

与传统检测方法相比, 近红外光谱技术具有快速、便捷等优点, 已被应用于玉米杂交种筛选, 使得玉米育种更加方便、快捷^[1-5]。Cui 等^[2]将近红外光谱与模式识别相结合, 实现了不同玉米种子的识别, 识别正确率超过 90%。Jia 等^[3]对带种衣的玉米种子进行近红外光谱分析, 所建立的 SIM-

收稿日期: 2018-12-04, 修订日期: 2019-05-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(41771357, 31201359, 81471698)和天津市自然科学基金项目(18JCYBJC96400, 16JCQNJC08200), 天津市科技计划项目(17ZXYENC00080)资助

作者简介: 丁璐, 女, 1993 年生, 天津农学院农学与资源环境学院教师 e-mail: 935469309@qq.com

* 通讯联系人 e-mail: liuhaixue@tjau.edu.cn

CA 模型的判别正确率为 97.5%。彭城^[5]等应用近红外光谱技术实现了转双价基因玉米的快速鉴别。李梦婷^[5]等利用近/中红外光谱结合聚类分析快速筛选玉米自交系组合。二维相关谱技术具有高的光谱分辨率, 特别适合复杂体系相似样品的分析, 已经被广泛的应用于复杂生物体系的研究中^[6-13]。本文将近红外光谱技术与二维相关谱技术相结合实现玉米杂交种的快速筛选, 并通过田间实地测量的玉米农艺性状数据验证了方法的有效性, 所提出的方法国内外尚未见相关报道。本研究对于玉米杂交种的筛选工作具有重要的参考意义。

1 实验部分

1.1 试验地概况

试验在内蒙古奈曼旗亨禾种业有限公司进行, 试验田地地形平整、地势平坦、地力均匀、排灌方便, 历年无异常或特殊的气象条件。

1.2 材料

对照品种: 当地推广品种 京科 958(JK958)。

供试玉米(F1代): 品系 489, 品系 9, 品系 10, 品系 14, 品系 16, 品系 24, 品系 26, 品系 57, 品系 84, 品系 107, 品系 109, 品系 110, 品系 112, 品系 121, 品系 147, 品系 157, 品系 263, 品系 264, 品系 284, 品系 314, 品系 317, 品系 320, 品系 542, 品系 541, 品系 582。

1.3 仪器及方法

1.3.1 光谱分析

室温下, 从各品系完全成熟的玉米果穗上剥取 20 个籽粒, 粉碎研磨后过筛(80 目), 样品一式两份存放于密封袋。使用 PE 公司的 Spectrum GX 型 FT-IR 光谱仪(配置钢砷化镓检测器和稳压空气冷却光源), 仪器自带积分球附件。近红外光谱波数采集范围是 4 000~10 000 cm^{-1} 。每个样品扫描次数为 16, 扫描间隔为 4 cm^{-1} 。为减少基线漂移对分析的影响, 采用 OMNIC 软件对所有的光谱进行基线校正、平滑处理、归一化光谱, 然后对这些数据进行多变量分析。

1.3.2 农艺性状

试验于 2017 年 4 月—2017 年 10 月进行, 实验区长 6 m, 宽 4 m, 面积 24 m^2 , 采用完全随机区组排列, 设 3 次重复, 共计 78 个实验小区, 试验总面积 1 872 m^2 , 试验田按行距 60 cm, 株距 25 cm 进行种植, 5 050 株/667 m^2 , 按照当地大田生产水平进行管理, 四周设有保护行。

玉米成熟后收获前在田间使用卷尺测量其株高和穗位高, 统计单株叶数; 室内考种使用直尺测量穗长, 使用游标卡尺测量穗粗、秃尖程度、轴粗, 统计穗行数、行粒数; 烘干后脱粒, 统计轴色(轴色分为红色和白色), 使用天平称量穗重、穗粒重、百粒重。

2 结果与讨论

2.1 不同玉米品系的近红外光谱分析——一级筛选

26 个玉米品系的近红外光谱如图 1 所示, 所有品系光谱

曲线的重合度极高, 在 4 327, 4 754, 5 181, 5 630, 6 858 以及 8 309 cm^{-1} 处出现特征峰。从光谱图直接得出的信息相当粗略, 无法实现各品系的鉴别和筛选, 因此需要借助多元统计方法。

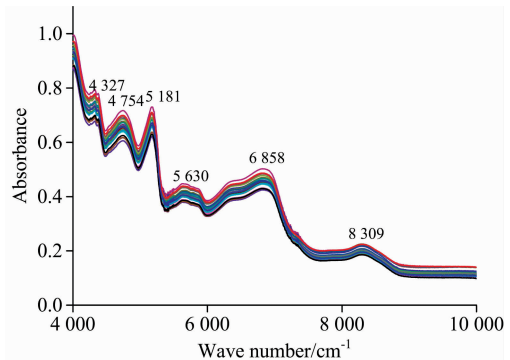


图 1 不同玉米品系的近红外光谱

Fig. 1 The near-infrared spectra of corn line

对图 1 中 26 个玉米品系的近红外光谱进行聚类分析, 其结果见图 2, 当类间距=10 时, 26 个品系被聚成 3 类。第一类是: 10, 489, 263, 320, 147, 26, 314, 110, 107, JK958(对照品种), 24, 84, 14, 112, 109 以及 541; 第二类是 9, 542, 16, 121 以及 57; 第三类是 317, 582, 284, 264 以及 157。根据对照品系在品系谱图中的位置, 可以得到与该品系大致相似的品系, 包括品系 320, 26, 107, 34 等。

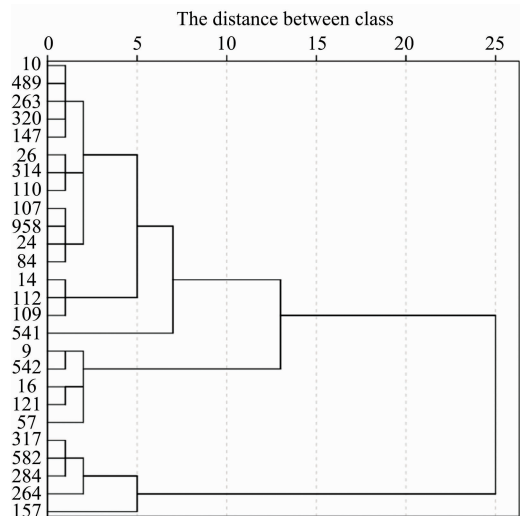


图 2 近红外光谱聚类分析结果

Fig. 2 The result of cluster analysis based on near-infrared spectra

2.2 二维近红外相关分析

二维相关谱表征的是外扰变化的特征光谱信息, 若两个样品完全相同, 则两样品相关图谱上不会体现任何的信息; 两个样品越相似, 其相关强度就越小, 反之成立, 所以可通过相关谱技术实现样品相似性的判别。

在上述近红外光谱聚类分析不同玉米品系一级筛选的基础上, 选出了品系 14, 26, 9 和 157 进行二维相关性分析, 对

其进行二级筛选。其中, 品系 14 和 26 是聚类分析中与对照品种 JK958 相似的品系, 而品系 157 和 541 在品系谱图中与 JK958 相距相对较远, 即相差比较大的品系。图 3(a)–(d) 分别是品系 14, 26 与 JK958 相关计算对应的自相关谱, 图 3(a) 中, 品系 14 和 JK958 在 4 337, 4 701, 5 085 和 6 270 cm^{-1} 等处出现较强的自相关峰, 其强度的范围在 0.000 0~0.000 2 a. u., 大小为 10^{-4} 数量级; 图 3(b) 中, 品系 26 和 JK958 在 4 010, 5 021, 5 812 和 8 395 cm^{-1} 等处出现较强的自相关峰, 其强度的范围为: 0.000 00~0.000 10 a. u., 大小为 10^{-5} 数量级。图 3(c) 中, 品系 9 与 JK958 在 4 380,

4 754 和 5 203 cm^{-1} 等处出现较强的自相关峰, 其自相关强度范围: 0.000 0~0.001 6, 大小为 10^{-4} 数量级。图 3(d) 中, 品系 157 与 JK958 在 4 327, 4 711 和 5 191 cm^{-1} 等处出现较强的峰, 其强度约为 0.000 4~0.002 0 a. u., 大小为 10^{-4} 数量级。故, 相比较之下, 前者的自相关强度小于后者。因此, 这两个品系中, 品系 9 可能与对照组更为相似。从自相关强度整体来看四个品系与 JK958 品种的自相关强度由大到小的排列顺序为 157>9>14>26, 表明: 品系 26 与对照品种 JK958 最相似。

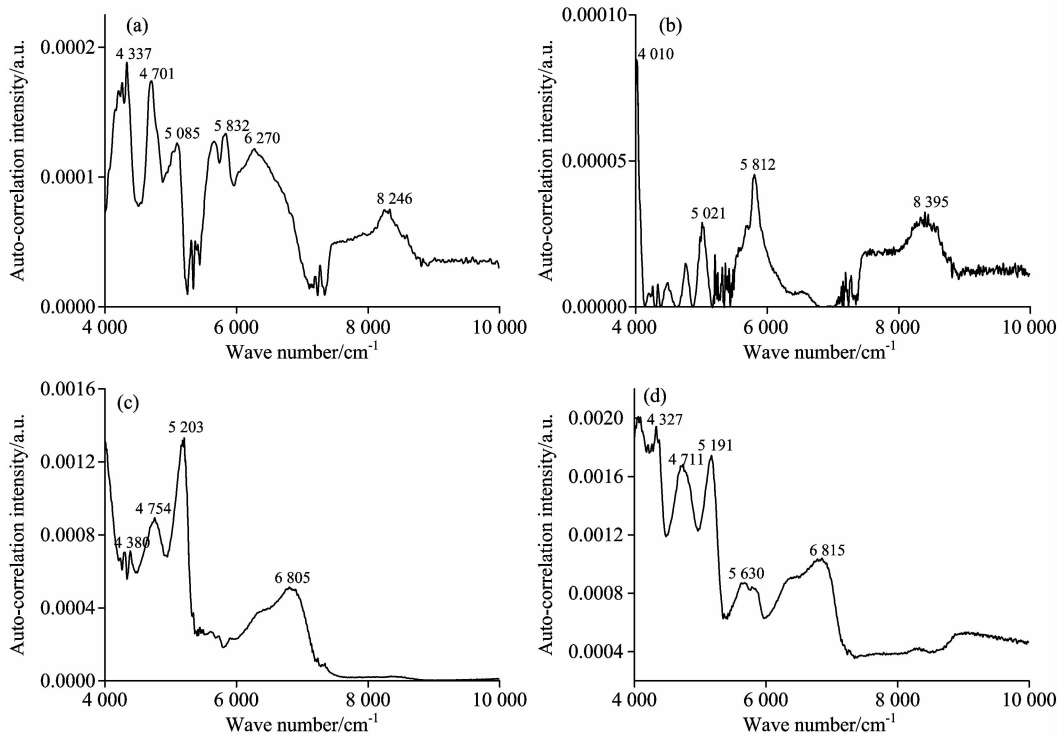


图 3 品系 14(a), 26(b), 9(c) 和 157(d) 的自相关谱

Fig. 3 Auto-correlation spectra of samples of 14(a), 26(b), 9(c) and 157(d)

2.3 农艺性状相关分析

为了验证上述方法分析结果的有效性, 采集了田间实地测量的玉米 15 个主要农艺性状数据(见表 1), 15 个主要农

艺性状分别为穗长、穗行数、行粒数、穗粗、秃尖程度、穗重、穗粒重、出籽率、百粒重、轴粗、轴色(轴色分为红色和白色)、株高、穗位高、单株叶数、亩产量。

表 1 26 个玉米品系的 15 个农艺性状

Table 1 The 15 agronomic characters of 26 corn lines

品系	穗长 /cm	穗行数	行粒数	穗粗 /mm	秃尖 /cm	穗重 /g	穗粒重 /g	出籽率 /%	百粒重 /g	轴粗 /mm	轴色	株高 /cm	穗位高 /cm	单株叶数	亩产 /kg
489	21.3	16.0	44.0	51.2	0.0	313.1	269.9	86.2	39.3	27.4	红	215.0	100.0	13.0	600.0
9	21.0	14.0	42.0	57.8	0.0	405.5	324.9	80.1	53.8	33.5	红	250.0	142.0	13.0	722.0
10	18.5	18.0	41.0	60.6	0.0	390.1	325.2	83.4	47.6	35.5	红	208.0	110.0	13.0	722.5
14	21.0	16.0	48.0	55.9	0.0	373.8	325.5	87.1	43.8	31.5	红	240.0	109.0	11.0	723.5
16	26.0	18.0	50.0	57.8	0.2	462	382.6	82.8	46.9	33.5	白	247.0	132.0	14.0	850.0
24	24.5	16.0	49.0	60.3	0.5	486.5	364.8	74.9	49.2	39.5	白	249.0	119.0	15.0	810.5
26	23.5	18.0	46.0	66.8	0.0	610.9	425.9	69.7	55.4	44.6	红	254.0	132.0	16.0	946.5
57	25.5	18.0	53.0	55.7	0.0	501.2	425.8	84.9	50.9	32.6	白	263.0	113.0	16.0	946.0
84	24.0	16.0	44.0	57.9	1.5	442.2	311.1	70.4	43.3	38.0	红	310.0	170.0	15.0	691.5

续表 1

107	19.0	20.0	38.0	62.9	0.0	413.0	318.5	77.1	43.3	39.8	红	250.0	120.0	17.0	708.0
109	23.0	20.0	48.0	61.9	0.5	509.5	389.3	76.4	48.1	41.9	红	280.0	120.0	15.0	865.0
110	20.0	16.0	42.0	55.5	0.0	342.1	281.4	82.3	44.6	29.4	红	260.0	134.0	14.0	625.5
112	19.0	20.0	40.0	53.9	0.0	354.6	293.5	82.8	39.0	29.7	红	270.0	120.0	14.0	652.0
121	23.0	18.0	48.0	49.1	0.5	312.1	276.7	88.7	32.2	27.4	红	275.0	125.0	15.0	615.0
147	22.4	18.0	43.0	59.5	0.5	479.4	373.6	77.9	49.8	35.0	红	276.0	146.0	18.0	830.0
157	20.0	16.0	41.0	56.5	0.0	373.0	319.3	85.6	51.0	29.5	红	260.0	100.0	13.0	709.5
263	22.4	18.0	37.0	61.4	0.0	506.3	379.7	75.0	58.3	38.1	红	260.0	120.0	15.0	844.0
264	24.2	16.0	45.0	16.9	0.0	565.5	428.3	75.7	44.9	33.5	红	295.0	135.0	15.0	952.0
284	21.4	24.0	47.0	65.90	2.2	467.8	362.7	77.5	34.9	40.9	白	235.0	115.0	14.0	806.0
314	20.0	22.0	44.0	59.9	0.6	388.9	324.3	83.4	35.9	34.5	红	250.0	120.0	13.0	720.5
317	24.0	18.0	43.0	57.2	0.0	508.2	381.9	75.2	53.8	36.5	白	275.0	125.0	15.0	848.5
320	24.0	18.0	45.0	60.53	0.2	504.6	405.3	80.3	53.5	40.6	红	275.0	115.0	15.0	900.5
541	19.2	22.0	41.0	60.1	0.2	401.3	333.8	83.2	42.1	35.4	红	220.0	100.0	16.0	742.0
542	19.0	22.0	46.0	63.4	0.2	456.4	382.4	83.8	37.7	35.7	白	260.0	150.0	16.0	850.0
582	24.5	16.0	52.0	51.3	0.0	442.5	344.3	77.8	44.1	30.3	红	260.0	130.0	17.0	765.0
JK958	22.2	16.0	51.0	55.9	0.0	437.0	393.9	90.1	42.0	31.5	白	290.0	140.0	14.0	875.5

将统计所得的农艺性状进行系统聚类分析。在系统聚类分析的谱系(图 4)中可以看出: 当类间距离=10 时, 26 个玉米

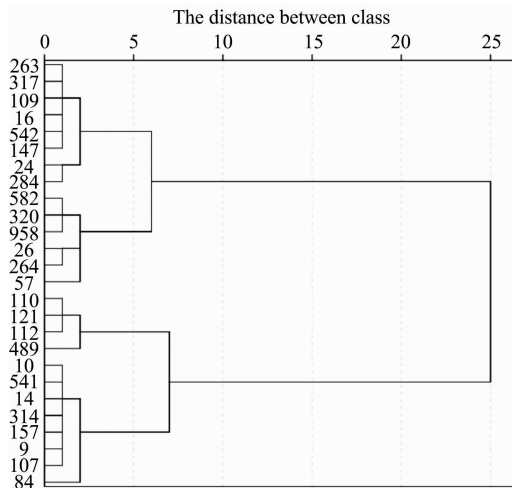


图 4 农艺性状聚类分析结果
Fig. 4 The result of cluster analysis based on agronomic traits

品系(品种)被聚类 2 类: 第一类包含对照品种 JK958 以及品系 582, 320, 26, 264, 57, 284, 24, 147, 542, 16, 109, 317 和 263, 第二类包括品系 110, 121, 112, 489, 10, 541, 14, 314, 157, 9, 107 和 84。其中, 品系 110, 121, 112 和 489, 产量在亩产 1 200 kg 左右, 其单位面积产量在所有品系中最低; 而品系 10, 541 等 8 个品系的株高和穗位高相对较低。结合农艺性状和近红外光谱分析结果, 得到品系 320, 26, 24, 147, 109 和 263 是二者的交叉结果。当自相关强度在 10^{-5} 时, 品系 26 和 JK958 聚为一类, 而品系 14, 9 和 157 在 10^{-4} 时聚为同一类。上述研究表明, 基于近红外光谱和二维相关谱技术对玉米品系进行初步快速筛选的方法是可行且有效的。

3 结 论

提出了一种基于近红外光谱结合二维相关谱技术快速筛选玉米杂交种的方法, 并通过田间 26 个品系 15 个农艺性状数据的聚类分析, 验证了所提出快速筛选方法的有效性和可靠性。所提出的方法可以为其他作物(水稻、小麦等)的杂交种筛选提供新思路。

References

- [1] Ambrose A, Lohumi S, Lee W H, Sensors and Actuators B: Chemical, 2016, 224: 500.
- [2] Cui Y J, Xu L J, An D, et al. International Journal of Agricultural & Biological Engineering, 2018, 11: 177.
- [3] Jia S, An D, Liu Z, et al. Journal of Cereal Science, 2015, 63: 21.
- [4] PENG Cheng, FENG Xu-ping, HE Yong, et al(彭 城, 冯旭萍, 何 勇, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2018, 38(4): 1095.
- [5] LI Meng-ting, YANG Ren-jie, CHEN Zhi-yuan, et al(李梦婷, 杨仁杰, 陈志远, 等). Seed(种子), 2017, 36: 93.
- [6] Noda I. J. Mol. Struct., 2014, 1069: 3.
- [7] Noda I. J. Mol. Struct., 2014, 1069: 23.
- [8] Chen B, Tian P, Lu D L, et al. Anal Methods, 2012, 4: 4310.
- [9] Yang R J, Sun X S, Wang B H, et al. Spectrosc. Lett., 2016, 49: 355.
- [10] Yang R J, Zhang W Y, Yang Y R, et al. Anal. Lett., 2014, 47: 2560.

- [11] Yang R J, Yang Y R, Dong G M, et al. *Anal. Methods*, 2014, 6: 3436.
[12] Yang R J, Liu R, Dong G M, et al. *Spectrochim Acta A*, 2016, 157: 50.
[13] Smith B R, Ashton K M, Brodbelt A, et al. *Analyst*, 2016, 141: 3668.

Rapid Screening of Maize F1 Hybrids Based on Near-Infrared Spectrum and Two-Dimensional Correlation Technology

DING Lu¹, LI Meng-ting², LIU Yang¹, ZHU Wen-bi¹, LIU Dong-mei³, MOU Mei-rui¹, LIU Hai-xue^{1*}

1. College of Resource and Environmental Science, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China

2. Rice Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

3. Cardiology Department, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China

Abstract In order to screen the dominant species of hybrid corn F1 generation effectively, a fast seed screening method was proposed based on near infrared spectroscopy and two-dimensional (2D) correlation spectroscopy. The jingke 958 (JK958) which is a variety of Naiman banner in Inner Mongolia local promotion as a control sample, the near-infrared (NIR) spectra of 26 maize lines were collected and clustering analysis was carried out. When the class spacing was equal to 10, 26 samples were clustered into 3 groups in terms of the results of cluster analysis. The first group is close to the control sample: JK958, 26, 14, 489, 263, 320 etc. The second group is 9, 542, 16, 121 and 57; the third group is far from the control sample: 317, 582, 284, 264 and 157. In general, if the difference between the two samples is small, the autocorrelation intensity is small. If the two samples are identical, synchronous 2D correlation spectrum cannot represent characteristic information under ideal conditions. Therefore, the similarity between the two samples can be judged by the autocorrelation intensity. According to the results of cluster analysis, lines 14, 26, 9 and 157 were selected for 2D correlation analysis. Among them, lines 14 and 26 are close to JK958 (contrast sample) in NIR cluster analysis, while the 9 and 157 with JK958 are far apart. The autocorrelation intensity is in the range of 0.000 0~0.000 2 a. u. for sample 14, 0.000 00~0.000 10 a. u. for sample 26, 0.000 0~0.001 6 a. u. for sample 9, 0.000 4~0.002 0 a. u. for sample 157. As a whole, the order of autocorrelation intensity between four samples and JK958 sample is $157 > 9 > 14 > 26$, which shows that sample 26 is the most similar to that of control sample JK958. In order to verify the validity of the above screening methods, cluster analysis was carried out based on 16 Main Agronomic Traits of maize measured in the field, and compared with the results of rapid screening by near infrared spectroscopy and 2D correlation spectroscopy. It can be found that there is a cross between the agronomic characters of clustering analysis and the near infrared spectral clustering (line 320, 26, 24, 147, 109 and 263). Samples 26 with the 10^{-5} autocorrelation intensity was close to JK958, and were clustered into one group, while samples 14, 9 and 157 with the 10^{-4} autocorrelation intensity were clustered into one group. The clustering results of agronomic traits confirmed the validity of NIR spectroscopy for rapid screening of maize lines. The results showed that NIR spectroscopy combined with 2D correlation spectroscopy was feasible and effective for rapid screening of maize lines.

Keywords Near-infrared spectroscopy; Two-dimensional (2D) correlation spectroscopy; Different corn lines; Agronomic traits; Clustering analysis

(Received Dec. 4, 2018; accepted May 22, 2019)

* Corresponding author