

近红外光谱分析技术在稻米品质测定和遗传分析中应用研究概述

孙园园^{1,2} 蔡怡聪² 谢黎虹² 焦桂爱² 魏祥进² 圣忠华² 唐绍清² 胡培松^{2*}

(¹ 杭州师范大学, 杭州 310000; ² 中国水稻研究所, 杭州 310006; * 通讯作者: hupeisong@cass.cn)

摘要: 近红外光谱定量分析技术是一项高效、快速检测样品中化学成分的方法, 在米质组分检测、快速筛选育种材料等方面得到广泛应用。文章简要介绍了该技术的基本原理、定量分析的步骤及其在稻米品质改良中的应用。近红外技术不仅能提高育种材料选择效率, 而且还有助于品质遗传机理研究的深入, 加速稻米品质改良进程。

关键词: 近红外光谱; 关联分析; 稻米品质; 改良育种

中图分类号: O657.3; S511 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-8082(2016)06-0001-03

水稻是世界主要粮食作物之一, 随着生活水平和健康意识的提高, 人们对水稻品质越来越重视。稻米品质主要包括碾磨品质、外观品质、蒸煮品质和营养品质。目前普遍采用农业部标准 NY/T 83-1988 来测定分析稻米品质, 此方法适用于水稻品质组分的精确测定, 但并不适合在育种中进行大批量样品多组分的快速筛选。因此, 需要一种高效、快速、准确的稻米品质检测分析方法, 为水稻品质改良育种提供技术支持。近几年, 我国越来越多的学者开始重视近红外光谱计量学方法的研究, 这是近红外光谱分析技术发展 to 较高级别的标志。近红外光谱技术(NIRS)具有快速、无损伤、费用低等优点^[1], 现已广泛用于水稻品质组分研究上。直链淀粉含量(Amylose Content)、碱消值(Alkali Spreading Value)、胶稠度(Gel Consistency)、蛋白质含量(Protein Content)和氨基酸含量(Amino Acid Content)是评价稻米蒸煮和营养品质的重要理化指标, 关系到稻米品质的优劣^[2], 这促使国内外学者对其进行近红外定标模型研究, 为水稻育种的品种资源鉴定、中间材料的筛选提供参考。由于水稻全基因组测序的完成, 使得越来越多 DNA 数据得到积累。关联分析技术可以将水稻全基因组的 DNA 数据与近红外模型预测的品质组分定量数据相结合来研究品质的遗传机理。

1 近红外光谱分析技术概况

1.1 构建近红外模型的理论基础

19 世纪初, 英国的 William Herschel 发现非可见光谱区, 波长在 780~2 526 nm 范围内, 具有“波”和“粒”的二重性, 主要是对含氢基团 X-H (X: C, N, S, O) 的吸收, 它由分子振动产生能级跃迁, 表现出基态能向高态

能能级的变化。因而, 光谱呈现的是样品化学键基团振动产生的倍频和合频信息^[3]。

1.2 近红外定标模型构建的关键步骤

利用 winsin 软件对定标数据的处理, 建立定标模型, 通过近红外模型可以对未知样本组分进行定性定量分析, 因而校正分析模型需要较高的精准度。具体分析过程由以下几个步骤组成: 首先扫描具有代表性的定标集, 得到光谱分析值; 接着采用实验室测定组分的标准方法测定实验室样品的参比值; 然后再通过合适的化学计量学中的光谱处理算法将扫描的光谱分析值和实验室测定的参比值关联建立近红外校正模型; 最后利用构建好的近红外模型对未知样本组分进行测定。测定的结果必须符合模型允许的误差要求, 否则需要重新收集代表性的样品对原有模型进行扩充, 用来优化模型的结构。

1.3 近红外分析的现代化

随着计算机技术、光纤技术与化学计量学等多学科技术的发展, 近红外光谱可以呈现出样品官能团的化学键强度变化、成分多少、电负性强弱及其氢键信息折射、投射、漫反射、散射、表面光泽、反射光的偏度等信息^[4], 也解决了近红外光谱信息杂乱的现象, 剔除干扰无用信息, 区分特征样品的有用信息。

2 近红外光谱分析技术在稻米品质研究中的应用

2.1 在稻米蒸煮品质检测中的应用

稻米蒸煮品质的主要指标为直链淀粉含量、胶稠

收稿日期: 2016-09-13

度、碱消值,关系到米饭的口感。目前测定蒸煮品质的方法主要是 NY/T 83-1988,费时费力,因而需要一种快速测定方法。舒庆尧等^[9]利用 MPLS 结合光谱分组法建立了相关系数达 0.98 的表观直链淀粉定标模型,提高了近红外分析技术对直链淀粉含量预测精度,同时用 SELECT 程序证明改变 H 距离可以剔除相似样本,减少需测定的样本数,这表明了在近红外分析技术中二阶导数可以消除不同粒度的样品对分析技术精准确度的影响和近红外分析技术在快速测定直链淀粉含量上具有成熟的实际操作性。刘建学等^[9]用 PLS 回归方法对 60 个样品建立了相关系数达 0.95 的大米胶稠度模型,表明近红外分析技术对胶稠度可以进行快速检测;随后谢新华等^[7]用多种计量数学方法和不同回归方法对 195 份样品进行定标,得到相关系数 0.83 的胶稠度定标模型,与刘建学建立的胶稠度定标模型相比,效果不理想,这表明近红外分析技术在胶稠度精准确度测定上还处于探索阶段。此外还发现,样本是否具有代表性和处理方法的的不同会影响近红外分析技术的精准确度。稻米的糊化特性也是影响稻米蒸煮品质的关键因素,Bao 等^[8]采用 MPLS 建立了定标系数达 0.947 的消碱值定标模型,表明近红外光谱分析技术已可以快速准确测定糊化温度。

2.2 在稻米营养品质检测中的应用

蛋白质和氨基酸是稻米重要的营养品质指标,其含量影响籽料饱满度与口感。蛋白质含量测定常用凯氏定氮法,其周期较长,消化样品繁琐、费时。而氨基酸含量测定常用的液相色谱法对样品破坏性大,且很难确保各种氨基酸的水解。具有成本低、分析速度快、不消耗样品、重现性好、在线分析等特点的近红外分析技术,对于快速测定营养品质显得尤为重要。毕京翠等^[9]采用 PLS 法对稻谷、米粒、米粉建立了 6 个稻米蛋白质的近红外模型,米粉模型的准确性大于米粒模型,稻谷蛋白定标系数相对较低,表明近红外分析技术可以根据材料的样品状态快速建立相应状态的定标模型。吴金红等^[10]采用 PLS 法对 59 个株系和 76 份品种建立 3 个不同的样品集蛋白质模型,结果发现,分离的群体蛋白质含量范围较窄,样品来源单一,模型局限于本群体,而样本混合建立的模型具有好的适应能力,表明样品种类覆盖广度对近红外分析技术有效果。陆艳婷等^[11]用 PLS 建立了籼稻稻谷、糙米、精米和精米粉的蛋白质含量定标模型,定标系数分别为 0.77、0.88、0.91、0.95,结果表明,若样本范围足够全面,近红外分析技

术的预测准确性好。而氨基酸含量的近红外分析技术研究报道很少,Zhang 等^[12]构建了天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸和精氨酸含量的 4 种氨基酸近红外模型。吴建国等^[13]报道的 3 种必需氨基酸模型相关系数大于 0.9。而同时构建出 17 种氨基酸的近红外模型少之又少,表明近红外光谱分析技术需要样品含量大于 0.1% 的组分。因此,对于稻谷中的其他痕量组分如维生素、矿物质等,目前尚不能较好的测定,但对大部分组分都取得了较好的定标效果,模型预测精度可以用于日常分析。近红外技术可以根据样品不同状态建立模型,则能保证种子无损分析检测,在稻米品质改良中得以应用,促进育种材料的快速筛选,缩短育种时间限制,减小育种的工作量,表现出快速测定的优势。

3 近红外光谱分析技术与关联分析技术在稻米品质遗传研究中的应用

近红外光谱分析技术可以快速筛选出稻米品质优良的育种材料,预测稻米品质的优良表型,如果某种标记在个体中分布十分明显,就可以与品质优良的表型相关联。关联分析主要以连锁不平衡为基础,研究群体中分子变异与表型变异之间的关系,是发现定位基因、对基因功能进行分析的育种技术,也是对分子遗传育种中的 QTL 分析进行了补充。目前,国内外已有研究人员利用关联分析技术研究了有关稻米品质基因位点;利用关联分析发现与淀粉合成途径有关的 18 个基因,阐明影响蒸煮品质的 3 个因素(直链淀粉含量、胶稠度和糊化温度)间的关联^[14];利用 36 个分子标记对 50 份糯稻的 18 个淀粉合成基因进一步关联研究发现,糯稻淀粉理化性状受 SSIIa、SSI 控制^[15]。而从另一方面利用 170 对 SSR 标记对 130 份水稻核心种质进行品质和有关理化性状的关联分析,共有 101 对分子标记与性状关联^[16]。YAN 等^[17]报道,在蒸煮品质的 RVA 关联位点中发现 17 个候选基因,10 个与 RVA 值相关联。利用 SSR 分子标记对地方品种的氨基酸含量关联分析,发现了 42 个与稻米氨基酸的关联位点,有 40% 的解释率。因而,关联分析中表型数据可基于近红外定标模型进行组分含量快速预测,这将加速育种进程中优势基因的挖掘。

在上述水稻品质关联分析中,对蒸煮品质、营养品质的分析结果与 QTL 相一致。邵高能等^[18]利用 QTL 技术发现了直链淀粉、胶稠度和碱消值的基因位点,分布于第 1、2、4、6、7 和 8 染色体上,并且集中分布于第 6

染色体 *Wx* 基因和 *ALK* 基因所在区域。而研究营养品质的关联位点,发现稻米蒸煮品质和营养品质性状可能具有相关性。在 16 种氨基酸中,4 种氨基酸含量中检测到 6 个具有主效应的基因位点,均位于第 6 染色体;随后又发现 2 个影响总淀粉含量的 QTLs,位于第 6 染色体短臂 RM508-RM511 和第 10 染色体 RM5348-RM5689 标记区间,在第 6 染色体的 RM587-RM111 区间内有 21 个位点控制 13 种氨基酸含量。在第 5 染色体的 RM305-RM178 区间有 11 种主要氨基酸均存在 QTL 位点,第 3 染色体的 RM168-RM143 区间也检测到 9 个控制主要氨基酸含量的位点,相邻区间 RM130-RM148 存在 7 个具有显著加性效应的 QTLs,因而关联分析是对 QTL 手段的补充。

4 结论

综上所述,近红外光谱分析技术能快速检测稻米的蛋白质含量、直链淀粉含量、胶稠度和碱消值,能够应用于水稻品质改良育种的快速分析与样品的筛选。近红外技术不仅能提高育种筛选效率,为水稻品质改良提供丰富的育种材料,而且在挖掘优势基因位点、稻米品质遗传机理研究上具有重要的作用。

参考文献

- [1] 祝诗平,梁晶,屠大伟,等.基于近红外光谱与 DPLS 的滴水油快速鉴别方法[J].西南大学学报:自然科学版,2012,34(5):1-6.
- [2] 黄发松,孙宗修,胡培松,等.食用稻米品质形成研究的现状与展望[J].中国水稻科学,1998,12(3):172-176.
- [3] Williams P, Preston K, Norris K. Determination of amino acids in wheat and barley by near - infrared reflectance spectroscopy [J]. *J Food Sci*, 1984, 49(1): 17-20.
- [4] Wu J G, Shi C H. Prediction of grain weight, brown rice weight and amylose content in single rice grains using near-infrared reflectance spectroscopy[J]. *Field Crop Res*, 2004, 87(1): 13-21.
- [5] 舒庆尧,吴殿星,夏英武,等.用近红外反射光谱技术测定精米粉样品表观直链淀粉含量的研究 [J]. 中国水稻科学,1999,13(3): 189-192.
- [6] 刘建学,张玉先,董铁有,等.大米胶稠度近红外光谱分析数学模型的建立[J].农业工程学报,2004,20(3):176-179.
- [7] 谢新华,李晓方,肖昕.应用近红外透射光谱法测定稻米胶稠度研究[J].中国粮油学报,2009,24(2):145-147.
- [8] Bao J, Wang Y, Shen Y. Determination of apparent amylose content, pasting properties and gel texture of rice starch by near-infrared spectroscopy[J]. *J Sci Food Agric*, 2007, 87(11): 2 040-2 048.
- [9] 毕京翠,张文伟,肖应辉,等.应用近红外光谱技术分析稻米蛋白质含量[J].作物学报,2006,32(5):709-715.
- [10] 吴金红,张洪江,梅捍卫,等.水稻蛋白质含量 NIR 模型适配范围的研究[J].中国农业科学,2006,39(12):2 435-2 440.
- [11] 陆艳婷,俞法明,严文潮,等.籼稻品质分析的近红外光谱模型建立及其应用研究[J].生物数学学报,2010,25(1):159-165.
- [12] Zhang B, Rong Z Q, Wu J G. Prediction of the amino acid composition in brown rice using different sample status by near-infrared reflectance spectroscopy [J]. *Food Chem*, 2011, 127(1): 275-281.
- [13] 吴建国,石春海,张小明,等.用近红外反射光谱法分析稻米 3 种必需氨基酸含量的研究[J].作物学报,2003,29(5):688-692.
- [14] Tian Z X, Qian Q, Liu Q Q, et al. Allelic diversities in rice starch biosynthesis lead to a diverse array of rice eating and cooking qualities[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106 (51): 21 760-21 765.
- [15] Xu F F, Zhang G, Tong C, et al. Association mapping of starch physicochemical properties with starch biosynthesizing genes in waxy rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *J Agri Food Chem*, 2013, 61(42): 10 110-10 117.
- [16] Zhao W G, Chung J W, Kwon S W, et al. Association analysis of physicochemical traits on eating quality in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Euphytica*, 2013, 191(1): 9-21.
- [17] Yan C J, Tian Z X, Fang Y W, et al. Genetic analysis of starch paste viscosity parameters in glutinous rice(*Oryza sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2011, 122 (1): 63-76.
- [18] 邵高能,唐绍清,焦桂爱,等.稻米蒸煮品质性状的 QTL 定位[J].中国水稻科学,2009,23(1):94-98.

Overview of Near Infrared Spectroscopy Application in Quality Measurement and Genetic Analysis of Rice

SUN Yuanyuan^{1,2}, CAI Yicong², XIE Lihong², WEI Xiangjin², JIAO Guiai², SHEN Zhonghua², TANG Shaoqing², HU Peisong^{2*}

(¹ Hangzhou Normal University, Hangzhou 310000, China; ² China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; *Corresponding author: hupeisong@cass.cn)

Abstract: Near infrared spectroscopy technology is an efficient method for detecting chemical constituents of sample, and widely used in the quality component testing and rapid screening of breeding materials, etc. This paper briefly describes the basic principle of the technology, quantitative analysis step and its application in rice quality improvement. Near infrared spectroscopy technology can not only improve the efficiency of breeding selection, but also contributed to a better quality of genetic mechanism research, and accelerate the rice quality improvement process.

Key words: near infrared spectrum; correlation analysis; grain quality; improved breeding