

两种大豆同名品种鉴别方法的对比研究

赵 婧^{1,2}, 何娟娟², 辛 霞², 卢新雄², 周延林¹

(1. 内蒙古大学 生命科学学院, 内蒙古 呼和浩特 010021; 2. 中国农业科学院 作物科学研究所 国家种质库, 北京 100081)

摘 要: 针对作物种质资源保存工作中存在的库存材料同名问题, 以国家种质库中 10 份不同来源的大豆同名品种“满仓金”种子为试验材料, 使用电子鼻对其挥发物进行检测, 通过主成分分析(PCA)及线性判别分析(LDA)对其进行区分鉴别, 并对其目录性状进行分析。目录性状聚类分析结果表明: 利用 13 个目录性状, 只能将 10 个品种中的 6 个品种区分开来, 其遗传距离较远; ZDD604 和 ZDD607, ZDD605 和 ZDD606 则聚在一起, 无法有效区分, 其目录性状中分别有 8 个和 10 个性状完全一致, 因此单纯依据目录性状进行品种鉴别存在一定的局限性。对电子鼻采集到的信号, 利用 LDA 分析方法只能将 10 个品种区分成 6 类; 而利用 PCA 分析, 则能够将 10 个品种很好地区分出来。为验证该技术对大豆品种鉴别的有效性, 使用电子鼻-PCA 分析随机选取其中的 2 份种子进行回判, 其回判准确率较高, 表明电子鼻-PCA 分析技术对同名大豆品种的鉴别效果是可靠的。

关键词: 同名品种; 大豆; 满仓金; 电子鼻; 主成分分析; 目录性状

中图分类号: TP212; S565.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.11861/j.issn.1000-9841.2015.03.0530

Comparative Study of Two Methods for Discrimination of Homonymous Soybean Varieties

ZHAO Jing^{1,2}, HE Juan-juan², XIN Xia², LU Xin-xiong², ZHOU Yan-lin¹

(1. School of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China; 2. National Genebank of China, Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Crop varieties with the same name brings a big challenge to genebank management, as genebank managers should secure that every variety being kept in the genebank is unique. In the present work, we tested the possibilities of variety discrimination by a non-destructive manner using electronic nose. The tested materials were 10 soybean varieties with the same name ‘Mancangjin’ selected from the National Genebank of China. Their code was ZDD0376, ZDD0604, ZDD0605, ZDD0606, ZDD0841, ZDD0078, ZDD0607, ZDD0925, ZDD1013 and ZDD1077, 5 of them with high genetic similarity coefficient, the other 5 with low genetic similarity coefficient. The head-space volatiles of these varieties were tested by a PEN3 electronic nose, and the signals were analyzed using principal component analysis (PCA) and linear discriminant analysis (LDA). The 10 varieties were also discriminated by documentation agro-traits. Agro-traits clustering analysis showed that using 13 agro-traits could only distinguish 6 varieties. Varieties ZDD604 and ZDD607, ZDD605 and ZDD606 were clustered together, as there were 8 and 10 agro-traits were completely consistent with each other, respectively. So it was difficult to distinguish these two groups by documentation agro-traits. The electronic nose signals that analyzed by LDA method could only divided the 10 varieties into 6 categories. ZDD0604, ZDD0605, ZDD0606 and ZDD0841 which with high genetic similarity coefficient were difficult to distinguish, yet ZDD0078, ZDD0607, ZDD0925 and ZDD1077 which with low genetic similarity coefficient were easy to distinguish. In addition, ZDD0376 and ZDD1013 were also difficult to distinguish. While using PCA method could distinguish all those 10 varieties clearly. Two varieties were selected randomly which the code were ZDD0376 and ZDD1077. They were further used to verify the validity of electronic nose technology for identification of soybean varieties by PCA method. The accuracy of the results was high, declaring that the use of electronic nose-PCA technique is reliable in the identification of homonymous soybean varieties.

Keywords: Homonym; Soybean; Mancangjin; Electronic nose; PCA; Agro-traits

作物种质资源是人类繁衍、生存和发展最根本的物质基础和战略资源^[1]。因此,作物种质资源的保存有着十分重要的意义。然而,在种质资源保存工作中,库存材料同名现象是一个很突出的问题。

这些同名材料可能是同一品种重复保存,也可能是品种不同但命名相同。针对库存材料同名这一问题,工作人员往往需要开展大量的鉴定评价工作,以确保库存资源的唯一性、有效性。

收稿日期: 2014-09-11

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划(2013BAD01B01)。

第一作者简介: 赵婧(1987-),女,硕士,主要从事草地生态和种质资源方面的研究。E-mail: zhaojing0003@163.com。

通讯作者: 周延林(1963-),男,教授,博士,主要从事草地生态方面的研究。E-mail: shtai@imu.edu.cn。

目前,同名作物品种之间主要通过其表型性状和 SSR 分子标记进行区分^[2]。于萍等^[3]以 4 组地方同名粳稻为材料(同名称的各样本为一组),对其进行 SSR 分子标记分析,结果表明同名地方品种遗传一致度较高,但多数品种依然存在一定的遗传变异现象,并且个别品种存在较大差异,同名品种的遗传差异与其种质来源及品种名称的相似度没有关联;闫哲等^[4]以 19 份同名满仓金种子为试验材料,通过对其表型性状和 SSR 分子标记分析,发现 19 份满仓金种子均存在不同差异;肖军治等^[5]以 15 组同名水稻共 170 份种子为材料(同名称的各样本为一组),对其表型性状的分析表明 14 组材料各组内的差异均为显著,在考察的性状中差异水平达到显著的数量占所考察性状总数的 85.9%,对其 SSR 分子标记分析表明绝大部分材料遗传物质表现存在差异。

然而,以上几种对于同名作物品种的鉴别方法或是受环境和人为因素的影响,或是因检测时间较长以及对被测种质造成不可逆损害而存在缺点。近年来电子鼻技术逐渐兴起,其对综合评价气味整体信息有着巨大的潜力,并以快速、无损、检测成本低等特点,应用于众多领域,在对作物品种的鉴别方面也有涉及。例如,利用该技术,可以将不同粳米品种^[6]、不同小麦品种^[7]、同产地不同水稻品种^[8]以及不同等级的龙井茶叶^[9]区分开。

大豆是我国主要的粮食作物之一,在全国有大面积的种植。大豆品种满仓金具有产量高、品质优等特点,且曾频繁的被用作育种亲本,在大豆育种中发挥着十分重要的作用。在中国 1923 ~ 1995 年间育成的 651 个大豆品种中,由满仓金衍生的品种共计 140 个,占育种品种总数的 21.5%^[10-12]。在国家种质库中,以满仓金命名的大豆种质资源有 19 份,闫哲等^[4]已经利用表型性状和 SSR 分子标记技术研究了其异同,本文以其中的 10 份大豆同名品种满仓金种子为试验材料,其中 5 份的遗传相似系数较高,另 5 份的遗传相似系数较低^[4],利用电子鼻检测种质挥发性气体,通过数据分析对其进行区分,同时根据其目录性状对其进行区分鉴别,对比研究两种鉴别大豆同名品种的方法,旨在为同名作物品种的区分提供一种快速、无损、廉价的新技术手段。

1 材料与方法

1.1 材料

10 份不同来源的满仓金种子,编号为: ZDD0376、ZDD0604、ZDD0605、ZDD0606、ZDD0841、ZDD0078、ZDD0607、ZDD0925、ZDD1013、ZDD1077,由国家种质库提供(表 1),各种子发芽率均在 95% 及以上。

表 1 试验材料资料
Table 1 List of the experiment materials

实验编号 ID in this experiment	统一编号 ID in GeneBank	入库时间 Storage time	品种名称 Variety name	发芽率 Germination/%
1	ZDD0376	2010. 07. 08	满仓金	97
2	ZDD0604	2002. 05. 08	舒兰满仓金	95
3	ZDD0605	2002. 05. 28	伊通满仓金	99
4	ZDD0606	2002. 05. 28	辽源满仓金	99
5	ZDD0841	2002. 05. 28	满仓金	99
6	ZDD0078	2002. 05. 28	满仓金	100
7	ZDD0607	2002. 05. 28	榆树满仓金	95
8	ZDD0925	2004. 01. 09	满仓金	97
9	ZDD1013	2002. 05. 28	满仓金	96
10	ZDD1077	2002. 05. 28	满仓金	97

1.2 试验仪器

采用电子鼻系统 PEN3(德国,Airsense)。PEN3 电子鼻包含 10 个不同的金属氧化物传感器阵列,各传感器名称及性能描述见表 2。仪器组成主要包括:传感器通道、采样通道、计算机。响应信号值为

传感器接触到样品挥发物后的电导率与传感器在经过标准活性碳过滤气体的电导率的比值。该电子鼻具有自动调整、自动校准及系统自动富集的功能,有效地保证了电子鼻测量数据的稳定性和精确度。

表2 PEN3 电子鼻的各传感器性能特点

Table 2 Sensor main applications in electronic nose

传感器名称 Sensor name	性能描述 Performance	各项成分体积分数 Volume fraction/mL·m ⁻³
W1C	芳香成分	甲苯 μL
W5S	灵敏度大,对氮氧化物很灵敏	NO ₂ μL
W3C	氨水,对芳香成分灵敏	苯 μL
W6S	主要对氢气有选择性	H ₂ μL
W5C	烷烃芳香成分	丙烷 μL
W1S	对甲烷灵敏	CH ₄ μL
W1W	对硫化物灵敏	H ₂ S μL
W2S	对乙醇灵敏	CO μL
W2W	芳香成分,对有机硫化物灵敏	H ₂ S μL
W3S	对烷烃灵敏	CH ₄ μL

1.3 方法

对 10 份不同来源的满仓金种子进行取样,每个样品 4 g,置于 100 mL 玻璃瓶中,密封静置 45 min,然后用电子鼻对其顶空挥发气体进行检测,各样品重复测量 3 次。多次预备试验结果表明,电子鼻的检测从 35 s 后趋于稳定,故本试验取 40 s 处的信号作为分析数据。因此,电子鼻测定条件为:采样时间为 1 s/组,传感器自清洗时间为 100 s,样品准备时间为 5 s,进样流量为 400 mL·min⁻¹,分析采样时间为 65 s,试验在室温 25℃ 下进行。

1.4 目录性状分析

将供试材料的粒色、粒形、叶形、生育习性、结荚习性、茸毛色、花色、生育日数、百粒重、株高、脂肪含量、蛋白质含量共 13 个目录性状进行统计,用 NTSYS 2.1 软件按照区段数据计算遗传距离,并用 SPSS 18.0 软件进行主成分分析。

1.5 电子鼻数据分析

利用电子鼻系统自带分析软件,对电子鼻采集信号进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)。

2 结果与分析

2.1 基于目录性状的分析

将 13 个目录性状数据进行聚类分析(图 1),10 个品种间遗传距离为 0.241 2 ~ 1.252 8,相似系数为 0.285 7 ~ 0.785 7,其中 ZDD1013 和 ZDD1077 之间遗传距离最大(1.252 8),遗传相似系数最小(0.285 7)。聚类分析表明,虽然目录性状能够将 10 个品种中的 6 个品种区分开,却无法对 ZDD604 和 ZDD607, ZDD605 和 ZDD606 进行有效区分。ZDD604 和 ZDD607 除在生育日数、百粒重、株高、脂肪含量、蛋白质含量上有一定差别外,其它性状完全一致;ZDD605 和 ZDD606 除在株高、脂肪含量、蛋白质含量上有一定差别外,其它性状完全一致。

10 份满仓金种子的目录性状主成分分析表明,其中 4 个主成分的累积贡献率可达 90.7%(表 3)。在第 1 主成分,粒形、结荚习性贡献率最大;第 2 主成分叶形、茸毛色贡献率最大;第 3 主成分粒色、生育习性贡献率最大;第 4 主成分株高、蛋白质含量贡献率最大(表 4)。因此,这 4 个主成分的 8 个性状在满仓金品种区分中贡献最大。

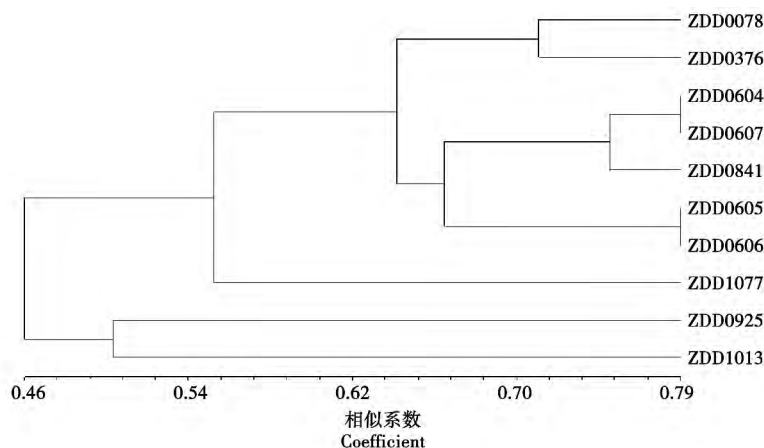


图1 10 份种子目录性状聚类图

Fig. 1 The diagram of the cluster result of the accessions using agronomic traits

表 3 试验相关矩阵特征值

Table 3 The eigenvalue of correlation matrix in the experiment

主成分 Principal component	特征值 Eigenvalue	差值 Difference / %	累计贡献率 Cumulative / %
1	4. 688	39. 070	39. 070
2	2. 748	22. 902	61. 971
3	2. 023	16. 858	78. 829
4	1. 420	11. 833	90. 662

表 4 试验入选的目录性状

Table 4 Directory traits in the experiment

性状 Character	主成分 1 Prin. 1	主成分 2 Prin. 2	主成分 3 Prin. 3	主成分 4 Prin. 4
粒色 Seed color	-0. 097	-0. 231	0. 943	0. 086
粒形 Shape of seed	0. 964	-0. 103	-0. 141	-0. 070
叶形 Shape of leaf	-0. 028	0. 947	0. 027	0. 317
生育习性 Growth determination	-0. 083	-0. 186	0. 918	0. 159
结荚习性 Pods determination	0. 925	-0. 089	-0. 129	-0. 159
茸毛色 Pubescence	-0. 028	0. 947	0. 027	0. 317
花色 Flower color	0. 824	-0. 102	-0. 129	0. 062
生育日数 Maturity	0. 889	-0. 086	0. 142	0. 321
百粒重 100-seed weight	0. 687	0. 626	0. 278	0. 051
株高 Plant height	-0. 546	-0. 122	-0. 328	0. 689
脂肪含量 Gross fat content	-0. 805	0. 150	-0. 050	-0. 297
蛋白质含量 Gross protein content	0. 028	-0. 634	-0. 165	0. 695

2.2 挥发物的线性判别分析(LDA)

图 2 为 10 份满仓金种子挥发物的线性判别分析图,用两个主成分来反应其 10 个原始指标。第一主成分贡献率为 90. 24% ,其中 W5S 传感器的贡献率最大;第二主成分贡献率为 8. 25% ,其中 W2S 传感器的贡献率最大,两主成分的贡献率达到了 98. 49% ,说明这两个主成分可以较好地反映原始数据的信息。

从图 2 可以看出,虽然线性判别分析时电子鼻信号较为集中,但是 10 份满仓金种子不能被很好地区分开来。尤其是相似系数较高的 ZDD0604、

ZDD0605、ZDD0606 ,其 3 部分图形重叠现象较严重,难以区分。ZDD0604、ZDD0605、ZDD0606、ZDD0841 这 4 份相似系数较高的满仓金种子的图形区域几乎交错重叠在一起,说明这 4 份相似系数较高的满仓金种子的挥发成分有一定的相似之处, LDA 分析法难以将其区分开。而 ZDD0078、ZDD0607、ZDD0925、ZDD1077 这 4 份相似系数较低的满仓金种子的图形区域则各自分开,能够很好地被区分开来,说明这 4 份相似系数较低的满仓金种子的挥发成分有一定的差异。此外,ZDD0376 和 ZDD1013 的图形也有部分重叠,较难区分。

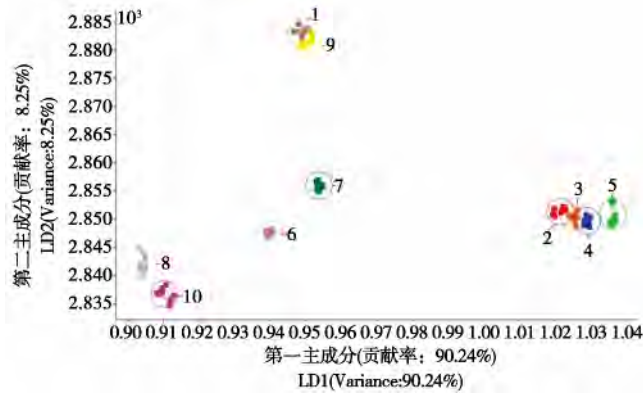


图 2 10 份满仓金种子的 LDA 分析结果图

Fig. 2 LDA scores for 10 Mancangjin seeds

2.3 挥发物的主成分分析(PCA)

图 3 为 10 份满仓金种子挥发物的主成分分析图,用两个主成分来反应其 10 个原始指标。第一主成分贡献率为 98. 26% ,其中 W5S 传感器的贡献率最大;第二主成分贡献率为 1. 14% ,其中 W2S 传感

器的贡献率最大,两主成分的累积贡献率达到 99. 40% ,说明这两个主成分可以较好地反映原始数据的信息。从图 3 中可以看出,10 份满仓金种子能够很好地被区分开来。说明 10 份满仓金种子的挥发成分存在一定差异,可以被电子鼻检测到。

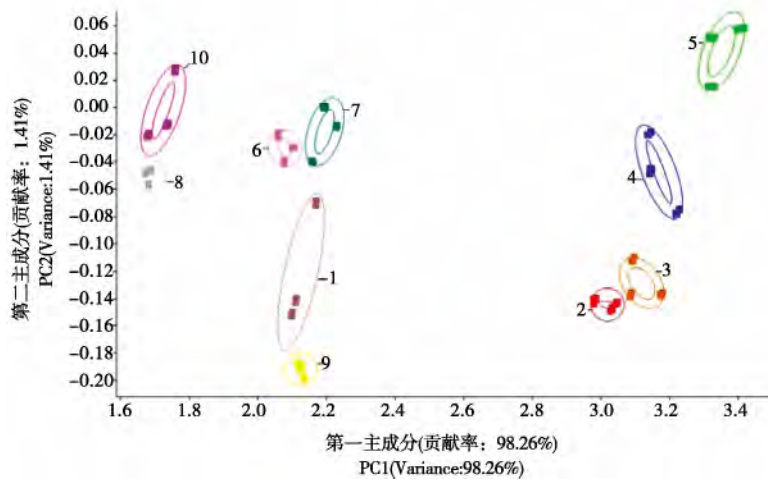


图 3 10 份满仓金种子的 PCA 分析结果图

Fig. 3 PCA scores for 10 Mancangjin seeds

2.4 PCA 回判分析

随机选取了 2 份满仓金种子,其编号为 ZDD0376 和 ZDD1077,每份种子取 6 个样品,每 3 个样品为一组,其中 ZDD0376 编号 a、b 组,ZDD1077 编号 c、d 组,用电子鼻对其顶空挥发气体进行检测。然后将其作为未知样品组,用主成分分析对检测结果进行回判,以确定电子鼻检测的准确性和可信

度。图 4 为 a、b 组样品的回判结果,从图中可以看出 a、b 两组与 ZDD0376 的图形几乎全部重叠在一起,回判准确率非常高。图 5 为 c、d 组样品的回判结果,c、d 两组与 ZDD1077 的图形大部分重叠在一起,回判准确率较高。通过对 4 组未知样品的回判可以看出,电子鼻对满仓金种子挥发物的检测准确性较高。

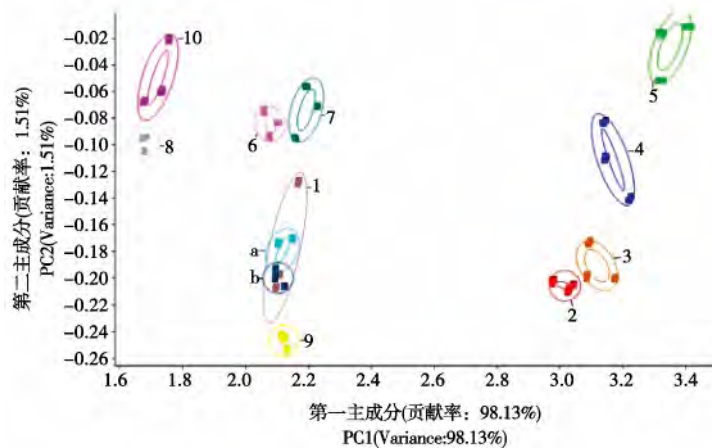


图 4 a、b 组样品 PCA 分析结果图

Fig. 4 PCA scores for a, b sample group

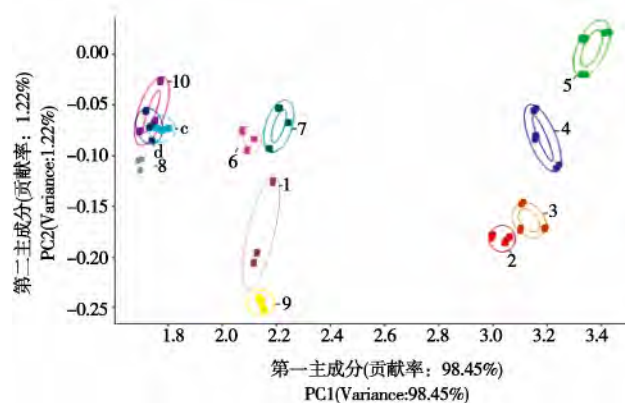


图 5 c、d 组样品 PCA 分析结果图

Fig. 5 PCA scores for c, d sample group

3 结论与讨论

在各个国家的作物种质资源保存工作中,都存在着品种名称相同的问题。解决好这一问题,能够很大程度地解决相同品种重复保存的问题,也能保证名称相同但品种不同的材料得到妥善保存,为种质资源的保存、管理、研究和利用提供方便。目前主要利用农艺性状和分子标记区分同名作物品种。其中农艺性状评价方法,简单、方便且可以描述品种的生物学性状,便于直观了解和选择所需的有利性状,但该方法很难排除环境和人为因素的影响,得到的结果往往不够完善。SSR 分子标记方法,主要特点是稳定,具有精确定位遗传图谱及挖掘与目标表型相连锁基因的优点,但其检测时间较长,并且会对被测种质造成不可逆损害。

为探索品种鉴别的新方法,本文利用电子鼻技术,通过对 10 份大豆同名品种满仓金种子挥发性气体的检测,建立了一种快速、无损的同名品种鉴别方法。通过 PCA 分析,能够将 10 份满仓金种子很好地区分开来,其区分效果好于 LDA 分析和目录性状分析。为验证该方法的可靠性,利用主成分分析对随机选取的 2 组 ZDD0376 和 2 组 ZDD1077 满仓金种子进行回判,回判准确率较高,证明电子鼻对满仓金种子挥发物的检测准确性和可信度较高。电子鼻分析法对这 10 份种子的鉴别结果与闫哲等^[4]对其的 SSR 分子标记分析结果是一致的,这不仅说明电子鼻对满仓金种子挥发物检测的准确性较高,而且与 SSR 分子标记相比,电子鼻检测速度更快、成本相对较低、且对种子不会造成任何损害。由此可见,电子鼻技术对同名作物种质的鉴别相较于目录性状评价及 SSR 分子标记有着检测灵敏度高、快速、无损、廉价等优点。这不仅为同名作物种质的区分提供了一种新的方法,还对节省库存材料,尤其是某些珍贵且稀有的种质材料,有着十分重要的意义。

参考文献

- [1] 卢新雄,曹永生. 作物种质资源保存现状与展望[J]. 中国农业科技导报,2001,3(3):43-47. (Lu X X, Cao Y S. Current status and prospect of crop germplasm resources for ex situ conservation[J]. Review of China Agricultural Science and Technology, 2001,3(3):43-47.)
- [2] 肖军治,李小湘,黎用朝,等. 水稻核心种质和同名异种资源的研究进展[J]. 杂交水稻,2011,2(3):1-6. (Xiao J Z, Li X X, Li Y C, et al. Progress in research of core collections and namesakes of rice genetic resources [J]. Hybrid Rice, 2011,2(3):1-6.)
- [3] 于萍,李丽,侯丽媛,等. 太湖粳稻同名地方品种的遗传差异[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(5):535-539. (Yu P, Li L, Hou L Y, et al. Genetic variation with in landraces with the same name of Japonica rice in the Taihu lake region [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2010,11(5):535-539.)
- [4] 闫哲,常汝镇,关荣霞,等. 不同来源大豆同名品种“满仓金”表现型及 SSR 标记的异同性分析[J]. 植物遗传资源学报,2003,4(2):128-133. (Yan Z, Chang R Z, Guan R X, et al. Analysis of similarity and difference of soybean varieties Man-cangjins from various regions by using agronomic traits and SSR markers [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2003,4(2):128-133.)
- [5] 肖军治. 湖南同名异种地方稻资源核心种质遴选[D]. 长沙:中南大学,2011:10-34. (Xiao J Z. Corecollection of heterogeneous with same name of local rice in Hunan Province [D]. Changsha: Central South University, 2011:10-34.)
- [6] Zheng X Z, Lan Y B, Zhu J M, et al. Rapid identification of rice samples using an electronic nose[J]. Journal of Bionic Engineering, 2009,6(3):290-297.
- [7] 周博,王俊. 基于电子鼻的小麦品种鉴别研究[C]// 纪念中国农业工程学会成立三十周年暨中国农业工程学会 2009 年学术年会,太原:农业工程学报 2009. (Zhou B, Wang J. Discrimination of varieties of wheat seeds based on electronic nose [C]// Chinese Society of Agricultural Engineering 2009, Taiyuan: Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2009.)
- [8] 于慧春,熊作周,殷勇. 基于电子鼻的水稻品种鉴别研究[J]. 中国粮油学报,2012,27(6):105-108. (Yu H C, Xiong Z Z, Yin Y. The identification of rice varieties based on electronic nose [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2012,27(6):105-108.)
- [9] Yu H C, Wang J. Discrimination of LongJing green-tea grade by electronic nose [J]. Sensors and Actuators, 2007,122(1):134-140.
- [10] 张子金,姚唐忠,付子礼,等. 中国大豆品种志[M]. 北京:农业出版社,1985. (Zhang Z J, Yao T Z, Fu Z L, et al. Records of Chinese soybean cultivars [M]. Beijing: Agricultural Press, 1985.)
- [11] 胡明祥,田佩占. 中国大豆品种志(1978-1992) [M]. 北京:农业出版社,1993. (Hu M X, Tian P Z. Records of Chinese soybean cultivars [M]. Beijing: Agricultural Press, 1993.)
- [12] 盖钧镒,赵团结,崔章林,等. 中国 1923-1995 年育成的 651 个大豆品种的遗传基础[J]. 中国油料作物学报,1998,20(1):17-23. (Gai J Y, Zhao T J, Cui Z L, et al. The genetic base for 651 soybean cultivars released during 1923-1995 in China [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 1998,20(1):17-23.)