DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.04106

花生籽仁蔗糖含量近红外模型构建及在高糖品种培育中的应用

雷 永¹ 王志慧¹ 淮东欣¹ 高华援² 晏立英¹ 李建国¹ 李威涛¹
陈玉宁¹ 康彦平¹ 刘海龙² 王 欣¹ 薛晓梦¹ 姜慧芳¹ 廖伯寿^{1,*}

¹ 中国农业科学院油料作物研究所 / 农业农村部油料作物生物学重点开放实验室, 湖北武汉 430062; ² 吉林省农业科学院花生研究所, 吉林公主岭 136100

摘 要: 含糖量是决定和影响花生食用品质和加工特性的重要指标, 蔗糖含量占成熟花生籽仁总糖量的 90%以上, 建立蔗糖含量的高效检测技术, 有助于加快高蔗糖甜味食用型花生品种培育进程。本研究利用蔗糖含量差异显著的 185 份花生材料, 利用近红外仪(波长范围 1100~2500 nm), 配合小样品杯, 扫描和采集自然干燥籽仁的近红外光谱, 采用液相色谱(HPLC)结合标准曲线法测定试验材料的蔗糖含量, 利用偏最小二乘法(partial least squares, PLS)构建了花生籽仁蔗糖含量的近红外定标模型, 模型的决定系数 $R^2 = 0.962$, 均方差为 0.383。利用 20 份材料对模型进行外部验证, 预测值和化学值的决定系数达 0.947, 表明该模型可较好地预测蔗糖含量, 可以高效地测定杂交早期世代的单株花生蔗糖含量。利用该模型在“吉花 02-1-4×中花 26”杂交后代中发掘出 6 份含糖量 7%以上、油酸 78%以上、含油量 48%以下, 且农艺性状优良的食用花生新品系。

关键词: 花生; 蔗糖含量; 近红外模型; 高蔗糖; 品种

Development and application of a near infrared spectroscopy model for predicting high sucrose content of peanut seed

LEI Yong¹, WANG Zhi-Hui¹, HUAI Dong-Xin¹, GAO Hua-Yuan², YAN Li-Ying¹, LI Jian-Guo¹, LI Wei-Tao¹, CHEN Yu-Ning¹, KANG Yan-Ping¹, LIU Hai-Long², WANG Xin¹, XUE Xiao-Meng¹, JIANG Hui-Fang¹, and LIAO Bo-Shou^{1,*}

¹ Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of Oil Crop Biology of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430062, Hubei, China; ² Peanut Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, Jilin, China

Abstract: Sugar content is an important factor affecting the flavor and processing characteristics of peanut (*Arachis hypogaea* L.) kernel and the sucrose content accounts for more than 90% of the total sugar content in peanut kernel. High-efficiency detection approach for sucrose content is crucial in developing high sucrose peanut varieties. In this study, 185 peanut genotypes with diversified sucrose contents were scanned in wave length of 1100–2500 nm for constructing a near-infrared spectrum of naturally dried seeds. The sucrose contents were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) combined with standard curve method. A near-infrared calibration model of peanut seed sucrose content was established by partial least square method (PLS). For sucrose content, the coefficient of determinations (R^2) was 0.962 with mean square deviation of 0.383. The coefficient of correlation between the predicted values and chemically tested value were 0.947 in 20 external samples, indicating that the model could predict sucrose content of peanut kernel. Six new sweet peanut lines with sucrose content over 7%, oleic acid over 78%, oil content less than 48% and desirable agronomic characters were selected among the hybrid progenies of “Jihua 02-1-4 × Zhonghua 26”.

本研究由国家重点研发计划项目(2018YFD1000900), 农业农村部油料作物生物学与遗传育种重点实验室开放课题(KF2020008), 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2013-OCRI)和广东省重点领域研发计划项目(2020B020219003)资助。

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFD1000900), the Open Project of Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs (KF2020008), the Innovation Program of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-ASTIP-2013-OCRI), and Key-Area Research and Development Program of Guangdong Province (2020B020219003).

* 通信作者(Corresponding author): 廖伯寿, E-mail: lboshou@hotmail.com

第一作者联系方式: E-mail: leiyong@caas.cn

Received (收稿日期): 2020-05-14; Accepted (接受日期): 2020-08-19; Published online (网络出版日期): 2020-09-21.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20200921.1535.005.html>

Keywords: peanut; sucrose content; near infrared spectroscopy (NIRS) model; high sucrose content; varieties

花生是我国重要的油料和经济作物。近 10 年来,我国花生年均总产约 1680 万吨,居世界首位,占全球花生总产的 38%^[1]。我国花生总产约 50%用于榨油,40%作为食用,欧美等发达国家生产和进口花生则 70%以上作为食用和食品加工原料。随着人民生活水平的提高和加工技术的进步,我国花生食用及食品加工量将越来越大,对原料的需求越来越多样化^[2]。含糖量高低对于花生的食用品质、加工风味有重要影响,含糖量和甜度高是鲜食花生的关键品质指标。研究表明,花生籽仁含糖量可作为预测烤花生风味和甜度的重要指标,与花生籽仁口味品质相关系数达 0.88,糖含量的微小变化也会影响最终的烘烤质量^[3-5]。花生干籽仁中蔗糖含量达到 6%以上时,口感较好。成熟花生籽仁中的糖类主要是蔗糖,占 90%左右。因此,发掘和培育高蔗糖含量的种质和品种,对于食用型花生品质的提升具有重要价值。

已有研究表明,花生含糖量是可以遗传的性状^[3-6],不同市场型花生的含糖量有显著差异,兰娜型(runner type)、弗吉尼亚型(virginia type)、瓦伦西亚型(valencia type)的总糖量均值分别为 2.90%、3.51%和 2.88%,西班牙型(spanish type)花生资源的蔗糖含量在 2.44%~7.61%之间^[7-8]。如何对资源材料和育种后代的蔗糖含量进行高通量、规模化的检测分析,是选育高糖优异食用型花生品种的关键技术。目前,传统的花生籽仁蔗糖含量测定方法多采用比色法和液相色谱法,耗时、费力且不能进行高通量检测。

近红外光谱法具有非破坏性、快速、高效的特点,在农作物品质分析中已得到广泛应用^[9-11]。花生中已经建立了含油量、脂肪酸、蛋白质、氨基酸等重要品质指标的近红外模型,但在籽仁蔗糖检测方面应用的较少^[12-19]。秦利等^[20]和唐月异等^[21]分别利用瑞典波通 DA7200 和德国布鲁克 Matris-I 近红外光谱仪建立了多粒花生籽仁的蔗糖含量近红外模型,但建立模型与测试时需要的籽仁量较大(30~50 粒),不能对籽仁量较少的单株进行蔗糖含量检测,并且以上 2 种型号光谱仪采集的光谱无法在其他公司生产的光谱仪上应用^[20-21]。

为了深入探索近红外光谱分析法的仪器广适性,本研究通过对 185 份花生样品蔗糖含量的测定,利用 Unity 近红外仪扫描样品的光谱,建立和优化花生成熟籽仁蔗糖含量的近红外分析模型,以期花生蔗糖含量测定提供更加快捷有效的方法,加快食用型花生品种选育进程。

1 材料与方法

1.1 研究材料

建模所用花生材料系本团队收集的国内育成品种和培育的高含糖量中间材料,总计 185 份,其中 S001~S121 是团队选育的蔗糖含量较高的育种中间材料,种植地点为湖北武汉, S122~S185 是筛选的含糖量有显著差异的品种在多个地方种植样品(表 1)。另取 20 份样品,编号为 ST01~ST20,作为外部样品用于模型验证。

表 1 建模和模型验证所用花生品种(系)编号及名称
Table 1 Peanut accessions used for developing NIR model

样品编号	品种(系)	种植地点	样品编号	品种(系)	种植地点
Sample ID	Variety (line)	Location	Sample ID	Variety (line)	Location
S001	A1435-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S104	A1516-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S002	A1435-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S105	A1516-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S003	A1442-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S106	A1518-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S004	A1444-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S107	A1518-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S005	A1444-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S108	A1520-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S006	A1444-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S109	A1520-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S007	A1444-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S110	A1529-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S008	A1444-6	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S111	A1529-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S009	A1447-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S112	A1532	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S010	A1447-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S113	A1538	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S011	A1447-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S114	A1541	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S012	A1447-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S115	A1543-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S013	A1447-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S116	A1543-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei

(续表 1)

样品编号 Sample ID	品种(系) Variety (line)	种植地点 Location	样品编号 Sample ID	品种(系) Variety (line)	种植地点 Location
S014	A1447-7	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S117	A1547-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S015	A1449-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S118	A1547-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S016	A1449-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S119	A1547-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S017	A1449-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S120	A1547-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S018	A1449-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S121	A1547-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S019	A1449-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S122	花育 23 Huayu 23	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S020	A1449-6	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S123	远杂 9102 Yuanza 9102	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S021	A1449-7	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S124	锦花 15 Jinhua 15	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S022	A1449-8	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S125	贵州红 Guizhouhong	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S023	A1449-10	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S126	扶余四粒红 Fuyusilihong	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S024	A1449-11	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S127	花育 16 Huayu 16	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S025	A1449-12	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S128	云花 3 号 Yunhua 3	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S026	A1449-13	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S129	山东仔 Shandongzai	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S027	A1449-14	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S130	麻阳小子 Mayangxiaozi	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S028	A1454-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S131	扶余四粒红 Fuyusiliong	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S029	A1454-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S132	青花 505 Qinhua 505	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S030	A1454-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S133	赣花 7 号 Ganhua 7	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S031	A1454-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S134	红豆花生 Hongdoughuasheng	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S032	A1454-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S135	团风小红粒 Tuanfengxiaoli	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S033	A1454-6	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S136	沿河本地种 Yanhebendizhong	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S034	A1458-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S137	贵州红花生 Guizhouhonghuasheng	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S035	A1458-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S138	贵州红皮 Guizhouhongpi	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S036	A1458-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S139	红花生 Honghuasheng	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S037	A1463	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S140	14-511855	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S038	A1464-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S141	皖花 2 号 Wanhua 2	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S039	A1464-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S142	日照瓜子 Rizhaoguazi	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S040	A1464-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S143	天府 3 号 Tianfu 3	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S041	A1464-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S144	天府 22 Tianfu 22	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S042	A1464-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S145	开封水果 Kaifengshuiguo	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S043	A1464-6	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S146	冀花 10 号 Jihua 10	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S044	A1464-7	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S147	河北水果 Hebeishuiguo	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S045	A1467-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S148	红仁花生 Hongrenhuasheng	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S046	A1467-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S149	四粒红 Silihong	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S047	A1467-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S150	杜皮红 Dupihong	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S048	A1467-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S151	钟山红豆 Zhongshanhongdou	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S049	A1467-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S152	吉花 18 Jihua 18	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S050	A1467-6	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S153	吉花 19 Jihua 19	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S051	A1471-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S154	吉花 20 Jihua 20	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S052	A1471-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S155	吉花 23 Jihua 23	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S053	A1471-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S156	吉花 24 Jihua 24	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S054	A1471-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S157	阜花 25 Fuhua 25	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S055	A1473-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S158	阜花 26 Fuhua 26	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S056	A1473-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S159	阜花 30 Fuhua 30	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S057	A1473-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S160	花育 23 Huayu 23	安徽合肥 Hefei, Anhui
S058	A1473-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S161	四粒红 Silihong	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei

(续表 1)

样品编号 Sample ID	品种(系) Variety (line)	种植地点 Location	样品编号 Sample ID	品种(系) Variety (line)	种植地点 Location
S059	A1473-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S162	冀 113 Ji 113	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei
S060	A1473-6	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S163	远杂 9102 Yuanza 9102	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei
S061	A1473-7	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S164	冀 11 Ji 11	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei
S062	A1473-8	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S165	冀花 18 Jihua 18	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei
S063	A1476	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S166	冀甜 1 号 Jitian 1	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei
S064	A1478-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S167	中花 16 Zhonghua 16	四川成都 Chengdu, Sichuan
S065	A1480-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S168	蜀花 3 号 Shuhua 3	四川成都 Chengdu, Sichuan
S066	A1480-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S169	天府 11 Tianfu 11	四川成都 Chengdu, Sichuan
S067	A1480-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S170	花育 23 Huayu 23	四川成都 Chengdu, Sichuan
S068	A1480-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S171	远杂 9102 Yuanza 9102	四川成都 Chengdu, Sichuan
S069	A1483-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S172	中花 6 号 Zhonghua 16	四川成都 Chengdu, Sichuan
S070	A1483-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S173	四粒红 Silihong	四川成都 Chengdu, Sichuan
S071	A1483-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S174	中花 24 Zhonghua 24	四川成都 Chengdu, Sichuan
S072	A1485-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S175	中花 21 Zhonghua 21	四川成都 Chengdu, Sichuan
S073	A1485-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S176	罗汉果 Luohanguo	四川成都 Chengdu, Sichuan
S074	A1485-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S177	中花 21 Zhonghua 21	安徽合肥 Hefei, Anhui
S075	A1485-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S178	罗汉果 Luohanguo	安徽合肥 Hefei, Anhui
S076	A1488	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S179	中花 215 Zhonghua 215	安徽合肥 Hefei, Anhui
S077	A1490-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S180	中花 16 Zhonghua 16	安徽合肥 Hefei, Anhui
S078	A1490-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S181	四粒红 Silihong	安徽合肥 Hefei, Anhui
S079	A1493-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S182	中花 21 Zhonghua 21	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei
S080	A1493-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S183	罗汉果 Luohanguo	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei
S081	A1495-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S184	中花 16 Zhonghua 16	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei
S082	A1495-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	S185	冀花 16 Jihua 16	河北石家庄 Shijiazhuang, Hebei
S083	A1497	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST01	中花 16 Zhonghua 16	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S084	A1504-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST02	中花 21 Zhonghua 21	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S085	A1504-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST03	A1458-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S086	A1504-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST04	宛花 2 号 Wanhua 2	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S087	A1504-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST05	中花 15 Zhonghua 15	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S088	A1504-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST06	中花 12 Zhonghua 12	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S089	A1504-6	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST07	19A1385	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S090	A1504-7	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST08	皖花 9 号 Wanhua 9	安徽合肥 Hefei, Anhui
S091	A1507-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST09	徐花甜 29 Xuhuatian 29	江苏徐州 Xuzhou, Jiangsu
S092	A1507-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST10	中花 9 号 Zhonghua 9	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S093	A1507-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST11	远杂 9102 Yuanza 9102	江苏南京 Nanjing, Jiangsu
S094	A1507-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST12	宁泰 9922 Ningtai 9922	江苏南京 Nanjing, Jiangsu
S095	A1510-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST13	A1447-6	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S096	A1510-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST14	苏花 0537 Suhua 0537	江苏南京 Nanjing, Jiangsu
S097	A1513-1	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST15	大四粒红 Dasilihong	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S098	A1513-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST16	冀花 16 Jihua 16	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S099	A1513-3	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST17	苏花 1713 Suhua 1713	江苏南京 Nanjing, Jiangsu
S100	A1513-4	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST18	冀花 11 Jihua 11	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S101	A1513-5	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST19	A1478-2	湖北武汉 Wuhan, Hubei
S102	A1513-6	湖北武汉 Wuhan, Hubei	ST20	徐花甜 30 Xuhuatian 30	江苏徐州 Xuzhou, Jiangsu
S103	A1513-7	湖北武汉 Wuhan, Hubei			

1.2 研究方法

1.2.1 光谱采集 采用美国 Unity 科技公司生产的 SpectraStar XL 近红外光谱仪采集光谱, 光谱仪扫描波长范围为 1100~2500 nm。调整环境温度在 20

图 1 本研究所用的近红外仪及小样品杯

Fig. 1 Near infrared reflectance spectroscopy instrument Unity-SpectrastarXL and small cup used in this experiment

1.2.2 蔗糖含量测定 将采集光谱所用的花生籽仁用磨样器磨碎, 称取 1 g 粉末样品(重复 3 次), 至 50 mL 的离心管中, 加入 10 mL 的 80%乙醇溶液, 80 水浴 30 min; 冷却至室温, 取上清 2 mL, 14,000×g 离心 5 min; 离心后取上清 700 μ L, 过滤至上样瓶中待上机检测。高效液相色谱型号为 Agilent 1290, 示差折光检测器(RID)检测, 柱子型号 20RBAX NH₂ (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), 流动相为 75 : 25 (v/v)乙腈/水溶液, 流速 1 mL min⁻¹, 柱温 40 °C, 进样量 10 μ L。按照 GB 5009.8-2016^[22]中高效液相法的标准溶液配制方法, 配制 2.0、4.0、6.0、8.0 和 10.0 mg mL⁻¹ 浓度的标准溶液, 过滤至上样瓶进行上机测定, 记录不同浓度标准溶液的峰面积, 以峰面积对浓度进行线性回归, 构建标准曲线。试样溶液上机检测, 记录目标峰面积, 从标准曲线中获得试样溶液中蔗糖的浓度。

1.2.3 模型构建与优化 采用Unity科技公司自带的UCAL近红外定标软件构建模型, 将测得的蔗糖含量化学值与采集的近红外光谱导入UCAL软件进行拟合光谱处理, 采用最小二乘法优化建模, 建模过程中自动剔除较大剩余值的异常样品, 然后再进行内部交叉验证剔除异常值, 通过比较模型的决定系数(R^2)和标准差(RMSECV)衡量模型质量, 筛选最佳模型, 并比较样品预测值与化学值的决定系数(R^2)和均方差(Mean Square Deviation, MSD)来衡量模型的质量。

左右, 样品在 20 °C 左右恒温放置 48 h 以上, 仪器开机预热 30 min 后, 每个样品取 15~20 粒籽仁, 装入直径为 3 cm 的小样品杯, 重复装样 3 次, 获得平均光谱用于建模(图 1)。

1.2.4 模型的外部验证 选取20个蔗糖含量显著差异的花生品种(系), 利用建立的近红外方法检测其蔗糖含量, 记录近红外模型的预测值, 再利用液相色谱法(HPLC)分析样品的蔗糖含量, 比较NIR预测值与HPLC测定化学值的相关性和准确性。

1.2.5 高糖高油酸品系选育过程 2015年春季, 以普通油酸花生品种“吉花02-1-4”(蔗糖含量为4.0%)为母本, 高油酸品种“中花26”(蔗糖含量2.3%)为父本配制杂交组合, 并收获F₁种子。2015年秋季, 将F₁种植于广东湛江, 收获F₂种子。2016年春季, 使用近红外检测单粒F₂种子中油酸含量, 选择油酸含量在75%以上的种子, 种植于湖北武汉, 并收获F₃单株。2017年春季, 使用近红外检测F₃单株种子油酸含量, 选择油酸含量在75%以上的单株, 种植于湖北武汉, 收获F₄。2018年春季, 将收获的F₄按株系种植于武汉, 调查农艺性状, 收获F₅, 2018年冬季, 将F₅种植于海南三亚, 收获F₆株系。2019年, 利用本研究建立的单株蔗糖含量近红外模型测定F₆株系的蔗糖含量, 并经液相色谱分析验证, 获得蔗糖含量7%以上、油酸78%以上的优良株系。

2 结果与分析

2.1 样品中蔗糖含量的化学分析结果

采用高效液相色谱法测定了 185 份花生籽仁的蔗糖含量, 样品的蔗糖测定值见表 2。蔗糖含量平均 4.82%, 变异范围 1.02%~8.48%, 标准差为 1.96, 标准

误 0.011, 变异系数 40.66%, 表明本试验选择花生材料的蔗糖含量分布范围广, 变异系数大, 代表性好。

2.2 近红外模型构建

采集的 185 份花生籽仁近红外光谱如图 2 所示, 建模样品近红光谱曲线趋势大致相同, 但不同样品的吸收峰强度不同。表明花生小样品杯扫描获得的近红外光谱图可以用于花生籽粒蔗糖含量的定量分

析。对花生中蔗糖的化学值和采集的近红外光谱数据进行拟合光谱处理, 采用偏最小二乘法(PLS)的化学计量学方法建立数学模型, 反复采用内部交叉验证剔除异常值, 通过比较模型决定系数(R^2)和均方差(MSD)衡量模型质量, 筛选最佳模型。去除异常值后, 176 份样品建立模型的决定系数(R^2)为 0.962, 均方差(MSD)为 0.383 (图 3)。

表 2 HPLC 法测定的定标样品蔗糖含量化学值
Table 2 Chemical values of sucrose content tested by HPLC

样品编号 Sample ID	蔗糖含量 Sucrose content (%)	样品编号 Sample ID	蔗糖含量 Sucrose content (%)	样品编号 Sample ID	蔗糖含量 Sucrose content (%)	样品编号 Sample ID	蔗糖含量 Sucrose content (%)	样品编号 Sample ID	蔗糖含量 Sucrose content (%)
S001	6.43	S038	7.22	S075	5.82	S112	5.50	S149	2.47
S002	7.66	S039	7.02	S076	6.25	S113	6.50	S150	1.68
S003	5.46	S040	6.91	S077	5.61	S114	3.95	S151	2.07
S004	6.48	S041	6.86	S078	6.35	S115	5.77	S152	2.45
S005	5.93	S042	6.66	S079	5.68	S116	5.77	S153	1.75
S006	5.36	S043	6.58	S080	5.46	S117	4.77	S154	1.33
S007	6.17	S044	6.43	S081	6.12	S118	5.68	S155	2.10
S008	5.38	S045	6.26	S082	6.33	S119	6.53	S156	1.71
S009	5.05	S046	6.04	S083	6.47	S120	5.15	S157	1.68
S010	6.51	S047	5.97	S084	5.59	S121	5.70	S158	1.70
S011	6.67	S048	6.42	S085	5.45	S122	2.38	S159	2.01
S012	6.77	S049	8.48	S086	5.74	S123	1.87	S160	2.12
S013	8.01	S050	6.22	S087	6.58	S124	1.68	S161	2.80
S014	6.86	S051	6.06	S088	6.16	S125	2.13	S162	2.05
S015	5.85	S052	5.86	S089	6.45	S126	2.16	S163	2.72
S016	5.03	S053	5.90	S090	5.68	S127	1.65	S164	4.00
S017	5.44	S054	6.20	S091	5.83	S128	2.09	S165	3.52
S018	5.94	S055	6.00	S092	6.09	S129	1.27	S166	8.39
S019	6.20	S056	6.24	S093	7.48	S130	1.29	S167	2.67
S020	6.31	S057	6.58	S094	7.55	S131	1.65	S168	2.99
S021	4.94	S058	5.44	S095	6.56	S132	1.56	S169	3.04
S022	5.23	S059	5.30	S096	7.32	S133	2.27	S170	3.00
S023	6.49	S060	5.41	S097	6.34	S134	1.61	S171	3.31
S024	5.24	S061	5.31	S098	6.16	S135	1.34	S172	2.80
S025	5.83	S062	5.33	S099	6.39	S136	1.87	S173	3.12
S026	4.93	S063	6.34	S100	6.42	S137	1.26	S174	2.95
S027	5.53	S064	5.42	S101	6.19	S138	1.02	S175	3.57
S028	6.20	S065	6.49	S102	5.74	S139	1.20	S176	2.64
S029	5.07	S066	5.93	S103	5.28	S140	2.32	S177	2.21
S030	7.22	S067	6.19	S104	5.36	S141	1.56	S178	3.13
S031	7.36	S068	6.67	S105	5.71	S142	2.36	S179	3.96
S032	5.73	S069	7.24	S106	5.42	S143	2.54	S180	2.38
S033	5.85	S070	6.59	S107	5.91	S144	1.36	S181	2.97
S034	8.06	S071	6.56	S108	5.89	S145	1.52	S182	3.50
S035	6.45	S072	5.28	S109	6.36	S146	2.22	S183	2.89
S036	5.61	S073	7.44	S110	4.91	S147	3.24	S184	2.75
S037	5.60	S074	6.41	S111	5.22	S148	2.50	S185	3.17

图 2 花生样品的近红外扫描光谱
Fig. 2 NIR spectra of peanut kernel samples

图 3 花生成熟籽仁蔗糖含量定标曲线决定系数
Fig. 3 Determination coefficient of predicted sucrose content in peanut seed by near-infrared reflectance spectroscopy

2.3 模型的外部验证

利用所建立的定标模型, 用近红外分析仪和化学方法对 20 份没有参加定标的花生材料作为外部验证样品集, 检验模型预测效果。蔗糖含量的预测值与化

学值的绝对偏差在-1.44%~0.72%之间, 决定系数(R^2) 0.947, $t = 0.233 < t_{0.05} = 2.093$ (图 4), 相关性达到极显著水平, 表明利用这个模型得到的预测结果准确, 具有很高的可信度, 可用于花生籽仁蔗糖含量的快速鉴定。

表 3 花生种子蔗糖含量近红外模型的验证
Table 3 Validation of near infrared model for sucrose content in peanut seed (%)

样品编号 Sample ID	化学值 Chemical value	预测值 Prediction value	偏差 Deviation	样品编号 Sample ID	化学值 Chemical value	预测值 Prediction value	偏差 Deviation
ST01	0.780	1.263	0.483	ST11	2.220	2.563	0.343
ST02	0.818	1.256	0.438	ST12	2.320	2.810	0.490
ST03	9.030	7.590	-1.440	ST13	6.520	6.152	-0.368
ST04	0.940	1.174	0.234	ST14	2.570	3.290	0.720
ST05	1.021	1.234	0.213	ST15	2.910	2.696	-0.214
ST06	1.078	0.716	-0.362	ST16	3.020	3.730	0.710
ST07	1.119	1.164	0.045	ST17	3.370	3.213	-0.157
ST08	1.246	0.927	-0.320	ST18	3.540	2.982	-0.558
ST09	4.773	5.268	0.495	ST19	4.045	4.518	0.473
ST10	1.851	2.246	0.395	ST20	5.206	4.706	-0.500

图 4 外部验证花生样品的蔗糖含量与测定化学值的相关性
Fig. 4 Correlation coefficients of sucrose content between HPLC and NIR testing in the external peanut samples

2.4 模型在高含糖量、高油酸优良品系中的应用效果

2019年利用本研究建立的单株蔗糖含量近红外模型，测定了“吉花02-1-4×中花26”的168个F₆株系的蔗糖含量，并经液相色谱分析，获得蔗糖含量6.8%以上、油酸78%以上的优良株系(表3)。从表3可以看出，获得的高蔗糖材料的含油量均低于48%，最低的仅42%，属于低油品系，油酸含量均在78%以上，属于高油酸材料。从图5可以看出，本研究筛选

出的6份高蔗糖、低含油量、高油酸品系在荚果大小、每荚果粒数、荚果和籽仁形状等食用品质相关的指标上也有很大差别，具有培育成不同食用型花生品种的潜力。

3 讨论

近年来，花生油用和食用品质及其遗传改良受到越来越多的关注，品质指标从最初的含油量、蛋白质含量逐步扩展到脂肪酸、氨基酸、蔗糖含量、白藜芦醇含量等。虽然这些品质指标均建有精准的化学测定方法，但普遍费时费力，因而推动了近红外技术在花生品质改良上的应用，针对不同的近红外仪型号，国内建立了多个品质性状的近红外模型^[13-14,16,18]。同时，模型检测需要花生籽仁量越来越少，甚至建立了单粒籽仁主要脂肪酸含量的近红外模型^[15,19]，模型预测结果的准确性也越来越好，显著提升了品质育种效率。本研究利用美国Unity公司的近红外仪，建立了小样品杯的蔗糖含量预测模型，能对杂交后代早期的单株籽仁进行检测，并具有较好的预测结果，是对已有蔗糖含量模型的改进和丰富^[20-21]。为更好地进行蔗糖含量的预测和种子纯度分析，在以后

表 4 获得的高蔗糖高油酸花生品系的主要性状

Table 4 Main characters of selected peanut lines with high sucrose and oleic acid

品系名称 Lines name	蔗糖含量 Sucrose content (%)	含油量 Oil content (%)	油酸 Oleate content (%)	百果重 100-pod weight (g)	百仁重 100-seed weight (g)	出仁率 Shelling percentage (%)	荚果长 Pod length (cm)	籽仁长 Seed length (cm)
SYT5-1	8.45	46.8	79.6	212	67	76.4	5.1	1.6
SYT7-1	7.63	45.3	80.2	204	56	76.6	4.6	1.5
SYT3-1	7.12	44.6	78.6	162	76	70.3	3.9	1.8
SYT3-2	8.02	47.8	81.5	176	80	74.9	3.7	1.8
SYT4-1	7.88	45.3	79.8	159	67	76.7	3.0	1.5
SYT4-2	9.07	42.2	81.1	168	80	78.6	3.2	1.5

图 5 获得的高糖高油酸优良花生品系
Fig. 5 Selected peanut lines with high sugar and high oleic acid content

的工作中, 还需要建立单粒花生蔗糖含量的近红外模型。

利用一个近红外仪对多个品质指标进行跟踪检测已经成为可能。如本研究就同时利用了含油量、油酸含量、含糖量 3 个近红外检测模型对同一样品进行检测, 获得了兼具高含糖量、低含油量、高油酸的优良食用型花生新品系, 这得益于当前花生重要品质参数近红外模型越来越丰富。随着花生品质研究的深入, 一些含量不高、目前关注较少、具有重要价值的品质性状也需要逐步建立近红外预测模型。

本研究在 2 个蔗糖含量并不很高的花生品种吉花 02-1-4 (4.0%) 和中花 26 (2.3%) 的杂交后代中筛选出一批含糖量超过 7% 的优良品系, 蔗糖含量表现出明显的超亲现象, 推测可能的原因是不同材料中控制蔗糖含量的位点不同, 杂交聚合产生了超亲效应所致。同时, 我们也看到, 蔗糖含量高的品系普遍含油量显著降低, 说明这一杂交组合中产生蔗糖含量超亲的后代与含油量合成受阻直接或间接相关, 因此, 深入研究高糖、低油品系形成的分子基础也十分必要。另外, 虽然成熟花生种仁的蔗糖含量与总含糖量及甜度相关, 但成熟花生种仁中还存在葡萄糖、果糖等其他糖类以及影响甜度的单宁等苦味成分, 这些成分对甜度亦有一定的正向和负向影响, 食用型花生的甜味及适口性评价仍需在蔗糖含量测定的基础上, 由经过训练的人员进行描述性感官风味分析^[3,5]。

4 结论

本研究利用籽仁蔗糖含量差异显著的花生材料, 构建了花生籽仁蔗糖含量的小样品杯近红外定标模型, 模型的决定系数 $R^2 = 0.962$, 验证样品集的决定系数为 $R^2 = 0.947$, 可以较好地预测花生籽仁的蔗糖含量。利用该模型配合含油量、油酸含量近红外模型, 高效的在“吉花 02-1-4×中花 26”杂交后代群体中发掘出 6 份高蔗糖、低油、高油酸、农艺性状优良的食用型花生新品系。

References

- [1] 廖伯寿, 殷艳, 马霓. 中国油料作物产业发展回顾与展望. 农学学报, 2018, 8(1): 107–112.
Liao B S, Yin Y, Ma N. Review and future prospects of oil crops industry development in China. *J Agric*, 2018, 8(1): 107–112 (in Chinese with English abstract).
- [2] 房元瑾, 孙子淇, 苗利娟, 齐飞艳, 黄冰艳, 郑峥, 董文召, 汤丰收, 张新友. 花生种仁外观和营养品质特征及食用型花生育种利用分析. 植物遗传资源学报, 2018, 19: 875–886.
Fang Y J, Sun Z Q, Miao L J, Qi F Y, Huang B Y, Zheng Z, Dong W Z, Tang F S, Zhang X Y. Characterization of kernel appearance and nutritional quality in peanut accessions and its application for food-use peanut breeding. *J Plant Genet Resour*, 2018, 19: 875–886 (in Chinese with English abstract).
- [3] Pattee H E, Isleib T G, Giesbrecht F G. Variation in intensity of sweet and bitter sensory attributes across peanut genotypes. *Peanut Sci*, 1998, 25: 63–69.
- [4] Pattee H, Isleib T, Giesbrecht F, McFeeters R. Investigations into genotypic variations of peanut carbohydrates. *J Agric Food Chem*, 2000, 48: 750–756.
- [5] Pattee H E, Isleib T G, Giesbrecht F G, McFeeters R F. Relationships of sweet, bitter, and roasted peanut sensory attributes with carbohydrate components in peanuts. *J Agric Food Chem*, 2000, 48: 757–763.
- [6] Isleib T, Pattee H, Giesbrecht F. Oil, sugar, and starch characteristics in peanut breeding lines selected for low and high oil content and their combining ability. *J Agric Food Chem*, 2004, 52: 3165–3168.
- [7] Bishi S K, Kumar L, Dagla M C, Mahatma M K, Rathnakumar A L, Lalwani H B. Characterization of Spanish peanut germplasm (*Arachis hypogaea* L.) for sugar profiling and oil quality. *Ind Crops Prod*, 2013, 51: 46–50.
- [8] Bishi S K, Lokesh K, Mahatma M K, Khatediya N, Chauhan S M, Misra J B. Quality traits of Indian peanut cultivars and their utility as nutritional and functional food. *Food Chem*, 2015, 67: 107–114.
- [9] 王铎, 张力, 范素杰, 韩笑, 吴晗, 王丕武, 姚丹, 张君. 大豆主要脂肪酸含量近红外模型的建立. 大豆科学, 2017, 36: 295–299.
Wang D, Zhang L, Fan S J, Han X, Wu H, Wang P W, Yao D, Zhang J. Establishment of NIRS model for the main fatty acids in soybean. *Soybean Sci*, 2017, 36: 295–299 (in Chinese with English abstract).
- [10] 康月琼, 郝风, 柴勇, 杨俊英, 黄永东, 熊英, 褚能明, 余官平. 油菜品质近红外检测模型建立的研究. 中国农学通报, 2011, 27(5): 144–148.
Kang Y Q, Hao F, Cai Y, Yang J Y, Huang Y D, Xiong Y, Chu N M, Yu G P. Study on construction of determination model of rapeseed quality with near-infrared spectroscopy. *Chin Agric Sci Bull*, 2011, 27(5): 144–148 (in Chinese with English abstract).
- [11] 刘盼, 张艳欣, 黎冬华, 王林海, 高媛, 周璐, 张秀荣, 魏鑫. 基于近红外模型的芝麻核心种质油脂和蛋白质含量变异分析. 中国油料作物学报, 2016, 38: 722–729.
Liu P, Zhang Y X, Li D H, Wang L H, Gao Y, Zhou R, Zhang X R, Wei X. Oil and protein contents analysis of sesame core collections based on near infrared reflectance spectroscopy model. *Chin J Oil Crop Sci*, 2016, 38: 722–729 (in Chinese with English abstract).
- [12] Misra J B, Mathur R S, Bhatt D M. Near-infrared transmittance spectroscopy: a potential tool for non-destructive determination of oil content in groundnuts. *J Sci Food Agric*, 2000, 80: 237–240.
- [13] 曲艺伟, 张鹤, 韩笑, 李雪莹, 王传堂, 王丕武, 姚丹, 张君.

- 花生脂肪酸近红外模型的建立. 分子植物育种, 2019, 17: 568–578.
- Qu Y W, Zhang H, Han X, Li X Y, Wang C T, Wang P W, Yao D, Zhang J. Establishment of near-infrared model of peanut fatty acids. *Mol Plant Breed*, 2019, 17: 568–578 (in Chinese with English abstract).
- [14] Fox G, Cruickshank A. Near infrared reflectance as a rapid and inexpensive surrogate measure for fatty acid composition and oil content of peanuts (*Arachis hypogaea* L.). *J Near Infrar Spec*, 2005, 13: 287.
- [15] Tillman B L, Gorbett D W, Person G. Predicting oleic and linoleic acid content of single peanut seeds using near-infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci*, 2006, 46: 2121–2126.
- [16] 王秀贞, 唐月异, 张建成, 崔凤高, 陈殿绪, 迟玉成, 王传堂. 近红外技术分析化学诱变对花生脂肪、蛋白质和蔗糖含量的影响. 花生学报, 2009, 38(4): 5–8.
- Wang X Z, Tang Y Y, Zhang J C, Cui F G, Chen D X, Chi Y C, Wang C T. Analyzing the effect of chemical treatment on oil, protein and sucrose content of peanut with NIRS. *J Peanut Sci*, 2009, 38(4): 5–8 (in Chinese with English abstract).
- [17] Wang C T, Tang Y Y, Wang X Z, Chen D X, Yu S L. Evaluation of groundnut genotypes from China for quality traits. *J Agric Res*, 2011, 12: 1–5.
- [18] 张建成, 王传堂, 王秀贞, 唐月异, 张树伟, 李贵杰. 花生自然风干种子油酸、亚油酸和棕榈酸含量的近红外分析模型构建. 中国农学通报, 2011, 27(3): 90–93.
- Zhang J C, Wang C T, Wang X Z, Tang Y Y, Zhang S W, Li G J. NIRS calibration models predictive of oleic, linoleic and palmitic acid content in sun-dried bulk peanut seed Samples. *Chin Agric Sci Bull*, 2011, 27(3): 90–93 (in Chinese with English abstract).
- [19] 李建国, 薛晓梦, 张照华, 王志慧, 晏立英, 陈玉宁, 万丽云, 康彦平, 淮东欣, 姜慧芳, 雷永, 廖伯寿. 单粒花生主要脂肪酸含量近红外预测模型的建立及其应用. 作物学报, 2019, 45: 1891–1898.
- Establishment and applicant of near-infrared reflectance spectroscopy models for predicting main fatty acid contents of single seed in peanut. *Acta Agron Sin*, 2019, 45: 1891–1898 (in Chinese with English abstract).
- [20] 秦利, 刘华, 杜培, 董文召, 黄冰艳, 韩锁义, 张忠信, 齐飞艳, 张新友. 基于近红外光谱法的花生种仁中蔗糖含量的测定. 中国油料作物学报, 2016, 38: 666–671.
- Qin L, Liu H, Du P, Dong W Z, Huang B Y, Han S Y, Zhang Z X, Qi F Y, Zhang X Y. Determination of sucrose content in peanut seed kernel based on near infrared spectroscopy. *Chin J Oil Crop Sci*, 2016, 38: 666–671 (in Chinese with English abstract).
- [21] 唐月异, 王秀贞, 刘婷, 吴琪, 孙全喜, 王志伟, 张欣, 王传堂, 邵俊飞. 花生自然风干种子蔗糖含量近红外定量分析模型构建. 山东农业科学, 2018, 50(6): 159–162.
- Tang Y Y, Wang X Z, Liu T, Wu Q, Sun Q X, Wang Z W, Zhang X, Wang C T, Shao J F. A near infrared spectroscopy model for predicting sucrose content of sun-dried peanut seeds. *Shandong Agric Sci*, 2018, 50(6): 159–162 (in Chinese with English abstract).
- [22] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB 5009.8-2016. 食品安全国家标准——食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定. 北京: 中国标准出版社, 2016. pp 1–16.
- National Health and Family Planning Commission of People's Republic of China. GB 5009. 8-2016. National Standards for Food Safety Determination of Fructose, Glucose, Sucrose, Maltose and Lactose Content in Food. Beijing: Standards Press of China, 2016. pp 1–16.