

文章编号: 1672-8785(2011)04-0035-05

用近红外光谱法快速无损检测苦豆子和决明子单粒种子生活力的研究

朱丽伟¹ 黄艳艳¹ 杨丽明² 孙宝启¹ 孙 群¹

(1. 中国农业大学农学与生物技术学院植物遗传育种学系; 农业部基因组学与遗传改良重点实验室; 北京市作物遗传改良重点实验室, 北京 100193;

2. 中国农业大学理学院, 北京 100193)

摘 要: 用傅里叶变换近红外漫反射光谱法测定了自然状态下单粒苦豆子与决明子种子的光谱, 并结合定性偏最小二乘法对这两种种子的生活力进行了鉴别研究。研究结果表明, 正反面两次平均光谱的建模效果要优于单次光谱; 采用不同样品建模时, 苦豆子与决明子模型的鉴别率均在 90% 以上。该研究为利用近红外光谱技术快速无损鉴定种子生活力提供了新的途径。

关键词: 近红外光谱; 苦豆子; 决明子; 自然老化; 生活力

中图分类号: S123 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-8785.2011.04.008

Rapid and Nondestructive Identification of Single Seed Viability of *Sophora alopecuroides* and *Cassia Tora* L Using Near Infrared Spectroscopy

ZHU Li-wei¹, HUANG Yan-yan¹, YANG Li-ming², SUN Bao-qi¹, SUN Qun¹

(1. Department of Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University/Key Laboratory of Crop Genomics and Genetic Improvement of Ministry of Agriculture/

Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Beijing 100193, China;

2. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: The spectra of both single *sophora alopecuroides* seed and single *cassia tora* l seed in natural state are determined by using Fourier transform near infrared diffusion spectroscopy. The viability of both seeds is distinguished by using distinguished partial least squares (DPLS). The result shows that the modeling based on the average spectrum at both side surfaces is better than that based on the single spectrum at one side surface. Both *sophora alopecuroides* seed model and *cassia tora* l seed model have an identification rate of 90% at least. This study provides a new method for distinguishing single viable seed rapidly, precisely and nondestructively.

Key words: near-infrared spectroscopy; *sophora alopecuroides*; *Cassia tora* L; seed viability

1 引言

种子生活力是指种子发芽的潜在能力或种

胚所具有的生命力^[1]。种子生活力测定方法包括四唑染色法、甲烯兰法、红墨水染色法和软 X 射线造影法等。其中, 四唑染色法已被正式列入

收稿日期: 2011-02-22

基金项目: 国家自然科学基金课题 (30971792); 中国农业大学基本科研业务费专项资金 (2009-3-7)

作者简介: 朱丽伟 (1985-), 女, 河南商丘人, 硕士研究生, 主要从事种子质量检测及加工方面的研究。E-mail: liweib0401001@163.com

国际种子检验规程和我国农作物种子检验规程,但是该方法不仅需要预处理,费工费时,而且测定完成后种子样品已被破坏,无法运用于下一个实验。

近红外光谱分析技术具有快速、准确、高效、低成本以及可同时检测多种成分等优点,其应用范围也由原来的农业扩大到食品、医药、化工等多个领域。2007 年,邵咏妮等人建立了一种基于独立组分分析和 BP 神经网络模型的可见/近红外光谱稻谷年份鉴别技术。该模型对未知样品的预测准确率达 100%,说明自然保存不同年份种子的内在成分发生了变化,可以运用近红外技术进行分析^[2]。2008 年,韩亮亮等人尝试了快速测定燕麦种子活力的方法,他们用近红外光谱结合主成分-马氏距离模式鉴别方法对人工老化后三种活力水平的燕麦种子进行了鉴别,取得了较好的建模效果^[3]。但以上研究大多是采用人工老化方法来获得不同活力或生活力的样本的。1995 年,李稳香等人指出,水稻种子人工老化与自然老化后的生理及田间表现具有差异,说明这是两个不同的老化机制^[4,5]。2004 年,董国军等人对人工老化与自然老化的水稻种子进行了研究,结果证明,大多数材料呈现了较好的一致性,其相关系数为 0.8992,但是也有少数材料的表现不一致^[6]。

苦豆子为豆科槐属多年生草本植物^[7],主要生于我国沙漠和半沙漠地区,可防风固沙。其种子中含有苦豆碱等药用成分,具有极高的利用价值。草决明为豆科一年生草本植物^[8],其种子决明子为临床常用中药。本实验拟采用自然状态下的苦豆子与草决明种子,利用近红外光谱结合偏最小二乘法建立其种子生活力测定的定性分析模型,为快速、准确、无损地测定种子生活力提供新的方法。

2 材料与方 法

2.1 实验材料

实验材料为草决明种子(由北京药用植物研究所提供,有生活力种子所占比例为 84.72%)和

苦豆子种子(购于河北安国中药材市场,有生活力种子所占比例为 75.00%)。

2.2 实验方法

2.2.1 单粒种子的光谱采集

采用德国布鲁克光谱仪器公司生产的 MPA 傅里叶变换近红外光谱仪,其分辨率设为 4cm^{-1} ,扫描范围为 $4000\text{cm}^{-1} \sim 12000\text{cm}^{-1}$,扫描次数为 32 次。实验中选择大小、色泽等外观均匀一致的种子,采用漫反射扫描,对每粒种子的正反面各扫描一次,并以 2 次重复的平均光谱和单次扫描光谱分别建模。当完成每粒种子的光谱采集后,对其进行标号以准备发芽试验。

2.2.2 种子生活力测定

将种子放在纸上,在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下以每日提供 16h 光照的条件对其进行发芽试验。由于苦豆子与草决明种子存在部分硬实现象,我们将编号种子放入发芽盒前先在远离种脐方向挫去一小块种皮,以破除硬实。发芽试验在 GXZ 智能型光照温培养箱中进行,将胚根突破种皮视为发芽。如果种子已发霉或者连续 15 天不发芽,发芽试验就结束。根据是否发芽,可将种子分为无生活力种子与有生活力种子^[9]。

2.2.3 数据分析与处理

采用中国农业大学开发的 CAUNIRS 近红外光谱分析软件,并利用定性偏最小二乘法建立种子生活力的定性分析模型。

3 结 果

3.1 建模样品的选择

对于苦豆子与决明子种子,均选择 90 份光谱进行建模分析。其中,苦豆子有生活力与无生活力种子的比例为 1:1,分为建模集与检验集两组,其中建模集 60 份,检验集 30 份;决明子有生活力与无生活力种子的比例为 1:1,分为建模集与检验集两组,其中建模集 60 份,检验集 30 份。

3.2 重复次数的比较

图 1 和图 2 分别为苦豆子和决明子种子的近红外漫反射光谱图,其中有活力种子和无活力种子的近红外光谱的吸收峰基本相似。

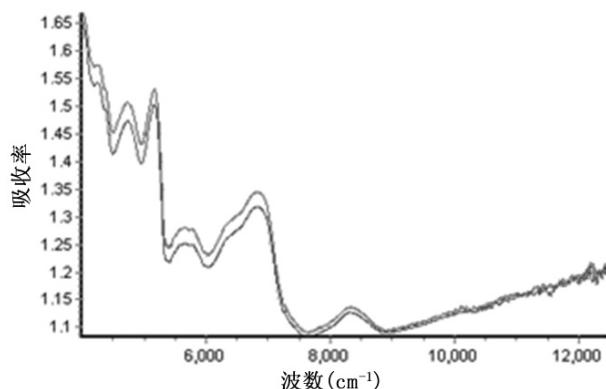


图 1 苦豆子有生活力与无生活力种子的近红外光谱

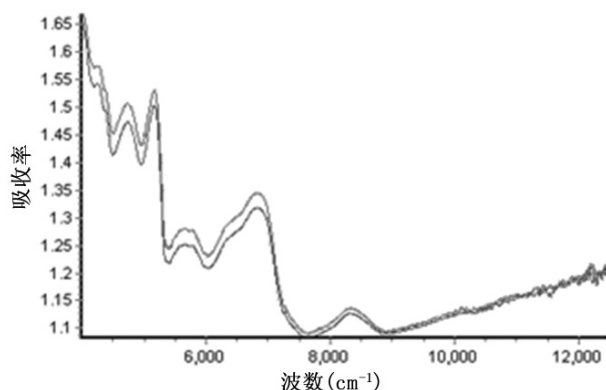


图 2 决明子有生活力与无生活力种子的近红外光谱

我们分别采用两份种子的单次光谱和正反面两次光谱的平均值进行建模。光谱范围选择 $4000\text{cm}^{-1} \sim 8000\text{cm}^{-1}$ 。表 1 中的结果表明, 无论是苦豆子还是决明子, 用单次光谱与平均光谱建立的模型的鉴别率均高于 90%, 但用平均光谱建立的模型的鉴别率优于用单次光谱建立的模型。用苦豆子平均光谱建立的模型的建模集和检验集的鉴别率分别为 97.22% 和 95.83%, 用决明子平均光谱建立的模型的建模集和检验集的鉴别率分别为 96.77% 和 96.43%, 均明显高于

用单次光谱建立的模型, 说明通过多次扫描可以获得较多的种子内部信息。

3.3 建模时光谱范围的选择

近红外光谱根据频率不同可以分为低频、合频和高频区, 10000cm^{-1} 以外的谱区噪声较大, 因此建模时应剔除此区, 选择 $4000\text{cm}^{-1} \sim 5000\text{cm}^{-1}$ 、 $4000\text{cm}^{-1} \sim 7000\text{cm}^{-1}$ 、 $4000\text{cm}^{-1} \sim 8000\text{cm}^{-1}$ 、 $4000\text{cm}^{-1} \sim 10000\text{cm}^{-1}$ 、 $5000\text{cm}^{-1} \sim 8000\text{cm}^{-1}$ 、 $5000\text{cm}^{-1} \sim 9000\text{cm}^{-1}$ 、 $8000\text{cm}^{-1} \sim 10000\text{cm}^{-1}$ 七个谱区进行建模。

由表 2 可知, 对于苦豆子, 选择 $4000\text{cm}^{-1} \sim 7000\text{cm}^{-1}$ 和 $4000\text{cm}^{-1} \sim 8000\text{cm}^{-1}$ 光谱范围时, 建模效果较好, 建模集与检验集的鉴别率均大于 95%; 对于决明子, $4000\text{cm}^{-1} \sim 7000\text{cm}^{-1}$ 、 $4000\text{cm}^{-1} \sim 8000\text{cm}^{-1}$ 和 $5000\text{cm}^{-1} \sim 8000\text{cm}^{-1}$ 几个谱区的建模效果均较好, 所建模型的建模集与检验集的鉴别率均在 95% 以上。

3.4 不同建模样品的建模效果

为了检验种子生活力模型的可行性及稳定性, 我们分 9 次从所扫描的光谱中随机选择 90 份不同种子的光谱用于建模。从表 3 中可以看出, 虽然样品不同, 但是所建苦豆子和决明子生活力模型的鉴别率均在 90% 以上。苦豆子建模集的平均鉴别率为 96.09%, 检验集的平均鉴别率为 95.77%; 决明子建模集与检验集的平均鉴别率分别为 95.28% 和 97.66%, 表明建模效果比较稳定。

表 4 为在 $4000\text{cm}^{-1} \sim 7000\text{cm}^{-1}$ 光谱范围内建立的苦豆子模型以及在 $4000\text{cm}^{-1} \sim 8000\text{cm}^{-1}$ 光谱范围内建立的决明子模型分别对 60 份未知样品的预测情况。检验集中苦豆子有生活力与无生活力种子的鉴别率在 90% 以上, 决明子种

表 1 单次光谱和两次平均光谱所建模型的鉴别率比较

光谱次数	苦豆子		决明子	
	建模集 鉴别率 (%)	检验集 鉴别率 (%)	建模集 鉴别率 (%)	检验集 鉴别率 (%)
单次	93.06	93.06	96.67	93.33
两次平均	97.22	95.83	96.77	96.43

表 2 光谱谱区对近红外模型鉴别率的影响

光谱谱区 (cm^{-1})	苦豆子			决明子		
	主成分数	建模集鉴别率 (%)	检验集鉴别率 (%)	主成分数	建模集鉴别率 (%)	检验集鉴别率 (%)
4000 ~ 5000	7	92.36	90.28	4	90.32	96.43
4000 ~ 7000	12	97.22	95.83	11	95.16	100.00
4000 ~ 8000	13	97.22	95.83	12	96.77	96.43
4000 ~ 10000	13	96.53	94.44	7	93.55	92.86
5000 ~ 9000	11	88.19	88.89	15	93.55	96.43
5000 ~ 8000	9	88.19	91.67	14	95.16	96.43
8000 ~ 10000	1	82.64	88.89	4	87.10	96.43

表 3 随机选择不同建模样品所建模型的鉴别率

随机选择 建模样品	苦豆子			决明子		
	主成分数	建模集鉴别率 (%)	检验集鉴别率 (%)	主成分数	建模集鉴别率 (%)	检验集鉴别率 (%)
第 1 次	12	97.22	95.83	13	95.16	96.43
第 2 次	10	95.14	98.61	12	96.77	96.43
第 3 次	13	96.53	93.06	13	95.08	96.55
第 4 次	12	97.24	95.77	11	93.33	100.00
第 5 次	10	93.79	98.59	12	93.44	96.55
第 6 次	13	96.55	92.96	12	93.55	96.43
第 7 次	12	97.26	95.71	13	96.72	100.00
第 8 次	10	94.52	97.14	11	96.72	96.55
第 9 次	13	96.58	94.29	10	96.77	100.00
均值	12	96.09	95.77	12	95.28	97.66

表 4 预测集中有生活力与无生活力种子时模型的鉴别率

	样本数	苦豆子		决明子	
		误判	鉴别率 (%)	误判	鉴别率 (%)
有生活力	40	2	95.00	3	92.50
无生活力	20	1	95.00	0	100.00
总计	60	3	95.00	3	95.00

表 5 有生活力与无生活力种子比例不同时模型的鉴别率

有生活力种子： 无生活力种子	苦豆子			决明子		
	主成分数	建模集鉴别率 (%)	检验集鉴别率 (%)	主成分数	建模集鉴别率 (%)	检验集鉴别率 (%)
1 : 1	12	91.44	94.44	8	97.54	96.67
2 : 1	9	92.51	85.70	8	96.67	93.25
3 : 1	9	87.92	87.97	6	95.87	94.16
4 : 1	12	94.00	93.31	7	95.93	93.03
5 : 1	13	95.32	95.06	8	97.22	93.93

子的鉴别率为 95%。

3.5 有无生活力比例不同时的建模效果

按照 1:1、2:1、3:1、4:1 和 5:1 的不同比例为有生活力与无生活力的种子建立模型, 并比较不同比例样品集对建模效果的影响。表 5 为有生活力与无生活力苦豆子种子比例不同时的建模结果。从中可以看出, 苦豆子所有比例模型的建模集与检验集的鉴别率均高于 85%, 决明子所有模型的建模集与检验集的鉴别率均高于 93%, 表明建模效果很好, 模型稳定。

4 结论与讨论

许多研究表明, 随着种子劣变程度的加深, 种子自身的能量合成、呼吸强度以及生物合成能力都会明显下降, 其染色体会发生畸变, DNA 会发生降解, RNA 和蛋白质的合成、酶的活性及细胞膜也都会发生变化^[1,10-13]。本实验利用自然形成的有生活力与无生活力苦豆子与决明子种子的近红外光谱结合偏最小二乘法, 建立了完整单粒种子生活力模型。其中, 用二次平均光谱建立的模型的建模集与检验集的鉴别率均在 95% 以上。采用不同样品建模时, 虽稍有差异但影响并不明显, 表明近红外光谱法应用于种子生活力的检测具有较高的稳定性。在建模过程中, 我们曾采用过多种预处理方法如散射校正、中心化、导数处理等, 但均没有达到更好的建模效果。不过主成分对模型的鉴别率有很大影响, 而且随着主成分的增加, 模型的鉴别率呈现出上升趋势, 而当主成分超过一定值后, 其鉴别率又随之下降, 出现过拟合现象。2004 年, 郑咏梅等人发现, 通过平滑处理可以去除信号中高频噪音的影响, 较大的平滑点数可以使信噪比提高^[14]。事实上, 平滑降低噪声也会使信号强度失真, 所以对不同光谱在选择平滑处理时也要谨慎。

本实验所建模型的样品预测准确率可以达到 95%, 说明运用近红外光谱法检测自然老化种子的生活力是可行的。但是种子的内部组成

受多种因素的影响, 如收获年份、收获期以及收获产地, 因此下一步工作可以尝试使用包含更多因素的种子来完善模型。

参考文献

- [1] 颜启传. 种子学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- [2] 邵咏妮, 曹芳, 何勇. 基于独立组分分析和 BP 神经网络的可见 / 近红外光谱稻谷年份的鉴别 [J]. 红外与毫米波学报, 2007, 26(6): 433-436.
- [3] 韩亮亮, 毛培胜, 王新国, 等. 近红外光谱技术在燕麦种子活力测定中的应用研究 [J]. 红外与毫米波学报, 2008, 27(2): 86-90.
- [4] 颜启传, 李稳香. 杂交水稻种子活力与田间生产性能之间的关系 [J]. 中国农业科学, 1995, 28(1): 90-98.
- [5] 李稳香. 杂交水稻自然老化和人工老化种子活力与田间生产性能的研究 [D]. 杭州: 浙江农业大学, 1992.
- [6] 董国军, 胡兴明, 曾大力, 等. 水稻种子人工老化和自然老化的比较研究 [J]. 浙江农业科学, 2004, 45(1): 27-29.
- [7] 李爱华, 孙兆军. 苦豆子资源开发现状及前景初探 [J]. 宁夏大学学报 (自然科学版), 2000, 21(4): 354-356.
- [8] 杨东爱. 决明子的研究进展 [J]. 中医药学报, 1996, 27(3): 34-35.
- [9] 杨期和, 殷寿华, 夏永梅, 等. 毛决明种子不同发育时期发芽力和脱水耐性的初步研究 [J]. 武汉植物学研究, 2002, 20(4): 288-292.
- [10] 朱世东, 黎世昌. 韭菜种子老化因子初探 [J]. 安徽农学院学报, 1991, 18(1): 55-60.
- [11] 张玉兰, 张明, 汪晓峰. 家榆种子老化过程中的细胞程序性死亡研究 [J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(3): 8-14.
- [12] 李铁华, 文仕知, 喻勋林, 等. 桦树种子贮藏过程中的活力变化研究 [J]. 林业科技, 2008, 33(2): 4-7.
- [13] 马国英, 徐锡忠. 种子老化过程中膜的变化及其原因 [J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(3): 233-236.
- [14] 郑咏梅, 张铁强, 张军, 等. 平滑、导数、基线校正对近红外光谱 PLS 定量分析的影响研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(12): 1546-1548.