

宋丰顺,倪大虎,倪金龙,等. 杂交水稻种子纯度检测方法综述[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):6-11.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.002

# 杂交水稻种子纯度检测方法综述

宋丰顺,倪大虎,倪金龙,李 莉,杨剑波

(安徽省农业科学院水稻研究所,安徽合肥 230031)

**摘要:**建立准确、快速、经济的检测方法监控杂交水稻纯度对于保障我国水稻安全生产具有至关重要的作用。本文综述了用于杂交水稻纯度检测的各种方法,并对各种方法的优缺点进行了评述,总体来讲,我国杂交水稻纯度鉴定方法的发展趋势是由鉴定周期长向鉴定周期短,由鉴定程序复杂向简单,由成本高向成本低的方向发展。根据各种检测方法的特点,认为 DNA 分子标记技术和设计育种鉴定方法有较大发展空间,能满足准确、快速、经济的要求;实时荧光 PCR 技术具有美好的前景。

**关键词:**杂交水稻;种子纯度;检测;实时荧光 PCR;DNA 分子标记;设计育种

**中图分类号:**S511.03 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)06-006-05

自 1976 年杂交水稻在我国培育成功以来,其以明显的产量优势和广泛的生态适应性受到普遍欢迎,迅速在全国乃至世界范围推广开来<sup>[1-2]</sup>。当前杂交水稻种植面积约 1 667 万  $\text{hm}^2$ ,约占我国水稻种植总面积的 60%,累计增收稻谷逾 4 亿 t,每年增产的粮食可多养活 7 000 万人<sup>[3]</sup>,为我国乃至世界的粮食安全作出了巨大贡献。杂交稻种子纯度是保障其增产的关键。杂交稻种子纯度是指杂交种子在特征特性方面典型一致的程度。由于杂交水稻制种环节多、周期长,在种子生产过程中生物学混杂和机械混杂时有发生,易导致杂交种不纯。有研究指出,在一定范围内,杂交稻纯度每下降 1%,667  $\text{m}^2$  减产 4~5 kg,纯度下降 10%,杂交稻将失去其增产优势<sup>[4]</sup>,我国规定杂交水稻种子纯度不得低于 96%。因此严格监控杂交稻种子质量,只允许合格种子进入市场和田间,对确保水稻增产具有重要意义。这其中建立准确、快速、经济的杂交种纯度检测方法对于种子质量监控具有重要意义。目前杂交种纯度检测主要有以下几种方法。

## 1 海南种植鉴定法

利用海南冬季温光资源进行的田间种植鉴定是当前杂交水稻纯度检测最常用的方法之一。海南种植鉴定结果直观且比较可靠,但种植环境条件的变化也可能引起某些假杂种与真杂种间难以区分,导致结果失真<sup>[5]</sup>。另一方面,该鉴定方法周期长,需要几个月时间,如果等待鉴定结果,再进行包装销售,将延误农民播种;如果隔年销售,将增加种子越冬的仓储费用,且储存不当会导致种子发芽率下降,将给种子公司的经营带来诸多麻烦。当前,采用海南种植鉴定的种子公司,在销

售种子时,多数情况下并不知道种子真实纯度,只能凭借经验,根据天气和制种田的情况估计纯度,海南鉴定结果只作为售后参考,这给杂交水稻生产埋下了安全隐患,该行业也被称为高风险行业,流传“十年赚钱,不够一年赔”的说法。

## 2 粒型鉴定法

粒型鉴定法通过观察种子的形态特征,与标准样品进行比较,判别种子真假,观察的主要性状有大小、形状、稃壳色、稃尖色、稃毛长短和稀密、柱头色和夹持率等。其优点是简单、快速,但由于亲缘关系较近的种子在形态上很难区分,且同一品种内各种种子形态并不完全一样,因此检验结果可靠性差<sup>[6]</sup>。

## 3 苯酚染色法

苯酚会使不同品种的谷粒或米粒呈现不同的颜色。水稻品种的苯酚染色一直被用于籼粳亚种间种子的鉴别,通常籼稻易着色,而粳稻难着色,并表现出程度上的差异。该法对籼、粳亚种间颜色区别明显,但对亚种内的水稻区分不明显。同时,水稻种子成熟度不同,染色后颜色深浅也往往不一样,所以该方法鉴定杂交种纯度易造成人为误差或错误<sup>[7]</sup>。

## 4 蛋白质电泳法

由于遗传上的差异,作物不同品种间的蛋白质种类和含量不同。蛋白质电泳可将品种间的蛋白差异在凝胶上区别开来。20 世纪 60 年代,蛋白质电泳技术即被应用到水稻等作物杂交种纯度检测。根据被检蛋白质的功能,可将其分为种子贮藏蛋白电泳和同工酶电泳两大类。目前用于纯度检测的种子贮藏蛋白主要有醇溶蛋白、清蛋白、球蛋白和谷蛋白<sup>[8-12]</sup>。同工酶是指催化反应相同而结构及理化性质不同的一组酶,它们几乎存在于所有生物中。被用于品种纯度检测的同工酶主要有酯酶同工酶、过氧化物同工酶、磷酸酶同工酶等。陆士伟等最早报道应用幼苗酯酶同工酶测定杂交水稻种子纯度<sup>[13]</sup>。李卓杰等利用胚芽的酯酶同工酶等电聚焦电泳对汕优 63、博优 64 等进行纯度鉴定<sup>[14]</sup>。颜启传应用种子及幼苗酯酶同工酶电泳鉴定多个杂交稻品种和亲本种子<sup>[15-16]</sup>。陶芳等利用汕优 64、汕

收稿日期:2016-01-11

基金项目:国家自然科学基金(编号:31201276);安徽省科技攻关计划(编号:1604a0702008、1401032001)。

作者简介:宋丰顺(1979—),男,安徽舒城人,博士,助理研究员,从事水稻生物技术育种工作。Tel:(0551)65160535;E-mail:sfs108@163.com。

通信作者:杨剑波,博士,研究员,从事水稻生物技术育种工作。Tel:(0551)65160535;E-mail:yjianbo@163.com。

优 63、特优 559 幼芽的酯酶同工酶谱带数量和深浅进行鉴定,结果与田间鉴定相差 1%~2%<sup>[17-18]</sup>。

蛋白质电泳在纯度鉴定中存在以下不足:(1)组织特异性强,不同发育阶段和不同组织的图谱差异大;(2)结果与操作过程相关,蛋白提取液、胶浓度和电泳系统不同,结果也会不同,导致难以形成统一标准<sup>[19-20]</sup>;(3)多态性少,对于亲缘关系较近的亲本及其杂交种难以鉴定;(4)偏亲带型的出现会使结果误判<sup>[21]</sup>。所以,蛋白质电泳法未能列入我国杂交水稻种子纯度鉴定的国家标准,实践中也未得到大规模应用。

## 5 DNA 分子标记鉴定法

DNA 分子标记技术的出现为杂交水稻纯度鉴定提供了新的思路。该技术直接以遗传物质 DNA 为基础,所揭示的多态性直接反映基因组差异。与形态学、蛋白质等其他鉴定技术相比,DNA 分子标记鉴定具有明显的优点:(1)无组织特异性,在生物体的各个组织、各个发育阶段均可检测,不受季节、环境限制,不存在表达与否的问题<sup>[22-23]</sup>;(2)许多分子标记表现为共显性,特别适合杂交种的检测;(3)数量众多,几乎是无限的,遍布整个基因组;(4)多态性高,自然界存在许多等位型变异。正是因为上述优点,使得 DNA 分子标记技术在品种鉴定中具有广阔的应用前景。

目前,DNA 标记主要有 RFLP、AFLP、RAPD、SCAR、SSR 等。RFLP 结果稳定可靠,重复性好,是共显性标记,缺点是所需 DNA 量大且质量高,操作步骤繁琐,成本高。AFLP 多态性丰富,所需 DNA 量小,但也需要酶切,对 DNA 纯度要求也较高,如果基因组不完全酶切会影响结果,同时,操作程序长、步骤多,电泳繁杂,且主要属于显性标记<sup>[24-25]</sup>。因此,这 2 项技术应用于品种鉴定的报道很少。

1996 年,钱前等利用 RAPD 标记,成功实现对真、假 II 优 63 种子的鉴定<sup>[26]</sup>。同年,杨剑波等应用 RAPD 标记在 30 个随机引物中筛选到 6 个多态引物能够区分杂交水稻汕优 63 及其亲本<sup>[27]</sup>。RAPD 操作简单,但 RAPD 本身存在重大缺点:(1)结果受反应条件影响很大,在很多情况下,试验结果不能重复;(2)多态性仍不足,需要大量筛选引物获得多态标记;(3)主要为显性标记(极少数为共显性),鉴定杂交种的能力不足<sup>[28]</sup>。产生这些缺点的根源是其扩增时所用的 10 bp 随机引物,扩增位点不确定所致。1999 年,杨剑波等将筛选到的多态性 RAPD 标记进行测序,并根据序列重新设计由 25~30 个碱基组成的引物,将 RAPD 标记转化为 SCAR 标记,解决了 RAPD 标记稳定性差的问题<sup>[29]</sup>。但是随着种子市场的发展和杂交稻品种的迅速增多,针对特定品种大量筛选引物,用单个多态标记鉴定种子的做法,显然不能满足市场需求。

SSR 标记的诞生,为确定一套通用引物,鉴定多个品种提供了可能。SSR 是一类由几个碱基组成的基序(motif)串联重复而成的 DNA 序列,它们广泛分布于基因组的不同位置上,每个座位上基序的重复数目不同,因而形成多态性。SSR 两端的序列多是相对保守的单拷贝序列,可用来设计特异引物,利用 PCR 技术扩增每个位点,通过电泳分析扩增片段的长度差异。

SSR 标记由于数量丰富,在染色体上分布均匀,多态性高,呈共显性遗传,重复性好,操作简便等特点,而成为一种理

想的杂交种检测分子标记。2000 年,李莉等对协优 63、协优 64 及其亲本进行 SSR 分析,筛选出 13 对 SSR 引物,可以对水稻杂交组合与亲本之间,以及杂交组合相互之间进行区分和鉴定<sup>[30]</sup>。此后,诸多的研究采用 SSR 标记鉴定杂交种纯度和真实性<sup>[31-38]</sup>。2006 年国家标准《三系杂交水稻及亲本真实性和品种纯度鉴定 DNA 分析方法》(GB/T 20396—2006)和 2007 年农业部行业标准《水稻品种鉴定 DNA 指纹方法》(NY/T 1433—2007)的颁布,标志着利用 SSR 分子标记技术鉴定杂交水稻种子纯度已经成熟,并走向真正的应用。2 套标准均各自确定了一套多态性丰富、重复性好、染色体分布均匀的通用 SSR 标记,可用于鉴定不同的水稻品种。但是,DNA 标记技术,包括 SSR 标记,仍需要专门的实验室,所需仪器设备较昂贵,对人员科技水平要求较高,检测过程较复杂,且成本较高,限制了该技术在基层的广泛应用。

## 6 实时荧光 PCR 检测法

纯度检测一般需要检测几百个单株,上述 DNA 分子标记技术在检测杂交种纯度时,需要对每个单株分别检测,工作量大。实时荧光 PCR 技术是近年来兴起的新兴检验技术,可对群体内外源片段的含量进行检测,即只要检测 1 个样品。2007 年,程毅等依据已报道的雄性不育特异片段 R2-630WA 设计了 1 对引物和 1 条 TaqMan 荧光探针,对 17 个水稻品种进行实时荧光 PCR 检测,结果表明:此探针能特异扩增三系杂交稻 F<sub>1</sub> 及不育系;纯度检测时,在测定低浓度(10%~40%)样品时偏差为 2% 左右,在测定高浓度(50%~100%)样品时,偏差为 5% 左右。其对低纯度样品的检测表现较好、高纯度样品检测结果偏差较大,分析了以下几方面原因:(1)曲线方程的推导需要更多数量和样品的重复;(2)此种绝对定量的方法受 PCR 体系中反应的核酸模板量影响较大,要想获得更精确的结果,最好加入含有内参基因标记的探针,实现相对定量后可大大提高检验的准确性;(3)对于实时荧光 PCR 这种高灵敏度的技术来说,其优点在于从所有样品中检测极少数阳性样品,因为反应中加入引物和探针的量有限,所以当样品中存在很多阳性模板时,反应容易进入平台期,检测结果则出现偏大误差<sup>[38]</sup>。实时荧光 PCR 技术检测杂交种纯度前景看好,但是当前的检测准确性还需进一步提高,检测标记的选择和设计方面还需进一步优化。

## 7 设计育种鉴定法

遗传和育种家探索利用苗期标记性状设计育种,以实现杂交水稻纯度的快速、准确、经济检测。

### 7.1 除草剂标记性状

2000 年,张集文等利用辐射诱变选育出苯达松敏感致死突变体 8077S,该性状由隐性单基因控制,其自交苗能被除草剂苯达松杀死,杂交种苗则对该药剂不敏感,运用该方法可在苗期快速检测和去除杂交稻中混入的两系不育种子<sup>[39-41]</sup>。Pan 等克隆了该基因(*bel*)<sup>[42]</sup>。黄大年等尝试用抗除草剂基因快速检测和提高杂交稻纯度<sup>[43]</sup>。

### 7.2 叶色标记

在两系和三系杂交稻中,给育性不稳的不育系,打上易于识别的叶色标签,是解决不育系自交结实问题的另一条有效

途径。马志虎等和舒庆尧等对能产生实际应用价值的叶色标记性状进行了概括,即作为叶色标记性状必须具有以下4个主要条件<sup>[44-45]</sup>:(1)标记性状遗传稳定,不易受外界环境因素的影响;(2)标记性状明显,易目测识别;(3)标记性状未与不良性状连锁,生长健壮,对杂交种、不育系、保持系的产量无影响;(4)标记性状为隐性。根据叶片颜色的不同,可将其分为以下几类:

(1)白化转绿标记。舒庆尧等、吴伟等、杨文清、沈圣泉等、赵海军等、吴殿星等分别利用培矮64S、广占63S、II-32B、龙特浦B种子,育成玉兔S、NHR111S、白丰A、全龙A等白化转绿型叶色标记不育系<sup>[46-54]</sup>。这些材料苗期1~3叶期表现叶缘白化,从第4叶开始转绿<sup>[55-57]</sup>。赵海军等以玉兔S为材料研究发现,白化转绿型突变体受单隐性基因控制<sup>[52]</sup>。在农艺性状方面,沈圣泉等、赵海军等的研究表明,这种类型的不育系无论稀播或密播,苗期生长慢于正常绿苗,但不会造成竞争致死<sup>[51-52]</sup>。Su等报道了培矮64S的白叶突变体 $ysa$ (young seedling albino),该突变体3叶期以前为白色叶,3叶期后逐渐转绿,转绿后对农艺性状无影响明显,该性状为隐性基因控制,基因已被克隆<sup>[58]</sup>。

(2)淡绿叶色标记。1999年,董凤高等选育成带有明显淡绿叶标记性状的粳型两系不育系M2S<sup>[59]</sup>。余新桥等以M2S为供体,与中红B杂交,再用其 $F_1$ 为母本与珍汕97B杂交, $F_2$ 代选择具有明显淡绿叶标记性状的株系与珍汕97A杂交、回交选育成该类型不育系标1A<sup>[60]</sup>。宋克堡等从安农810S繁殖田中发现了1株水稻淡黄叶隐性突变体,并育成系列淡黄叶两系不育系<sup>[61]</sup>。曹立勇等将淡绿色标记性状 $pgl$ 基因定位于第10条染色体<sup>[62]</sup>。杨文清等以自选的标8S为材料,遗传分析表明其黄白色性状受1对隐性主效基因控制,还与生长温度呈负相关<sup>[48]</sup>。王军等在粳稻武运梗7号中发现了1个黄绿叶自然突变体,经过多代自交形成了稳定的突变系,该突变系和武运梗7号的正反交 $F_2$ 代遗传分析表明,该材料的黄绿叶由1对隐性基因控制,命名为 $ygl-2$ ,并将其定位在第6染色体RM6298标记附近<sup>[63]</sup>。田振涛等对4个淡绿叶粳稻光温敏核不育系和正常叶色粳稻不育系浙农大11S及粳型不育系培矮64S进行了开花习性的比较,结果显示:淡绿叶色不育系的开花天数、开花率、柱头外露率都低于正常叶色不育系,日开花率、颖花张开时间和张开角度易受环境条件影响,表现较大差异;但淡绿叶色不育系的开花高峰都在午前09:00或10:00,表现早花特性<sup>[64]</sup>。

(3)紫色叶标记。曹立勇等采用1份粳型紫叶水稻和两系不育系W6154S杂交,在 $F_2$ 代选择紫叶稻回交1次后,以系谱法逐代选择而育成了带紫叶标记的两系不育系中紫S<sup>[62]</sup>;杨腾帮等选育了明紫02S和明紫03S<sup>[65-66]</sup>;余显权等育成综合性状优良、育性转换明显的隐性紫叶两系不育系99H114紫S等<sup>[67-68]</sup>。吴关庭等通过平阳霉素与射线复合处理,从早粳品种陆青早1号中诱变获得了紫叶突变体PLM12,遗传分析认为该紫叶性状属核遗传,由1对隐性主效基因控制,同时受若干微效基因修饰<sup>[69]</sup>。同样,石帮志等将紫香稻与明恢63杂交, $F_1$ 表现绿叶, $F_2$ 群体绿叶株与紫叶株的分离比符合3:1, $BC_1$ 群体的分离比符合1:1,证明紫香稻的紫叶性状是隐性性状<sup>[70]</sup>。但是,钱前等和曾大力等利用1份粳

型紫叶水稻分别与绿叶粳、粳稻杂交,发现杂交种 $F_1$ 呈绿色, $F_2$ 群体中绿叶与紫叶之比为13:3,55:9,符合2~3对基因的分离模式,推测绿叶稻品种均带有1对显性紫叶抑制基因 $IPl(t)$ ,使得杂交种 $F_1$ 呈绿色,另外还有2对显性基因控制紫色表型<sup>[71-72]</sup>。李维明等在其研究的 $F_2$ 群体中,也检测到13:3的分离比<sup>[73]</sup>。谢国生等对紫叶稻品种IC11003的遗传分析表明,该品种的紫叶性状受核内2对显性互补基因控制,无细胞质效应<sup>[74]</sup>。潘学彪等对W6417S的天然变异紫叶稻进行遗传分析发现, $F_1$ 代植株均为绿色, $F_2$ 群体绿叶株:紫叶株分离比有3:1、13:3和55:9等3种类型<sup>[75]</sup>。牟同敏等利用紫叶稻与22个不同类型的绿叶稻杂交, $F_1$ 均表现为绿叶,而 $F_2$ 群体绿叶株:紫叶株的分离比为3:1、13:3、55:9、229:27等4种遗传分离模型<sup>[76]</sup>。这些分离比表明,紫叶水稻和绿叶亲本间存在1~4对基因的差异,其中1对为显性抑制基因,双亲之间基因数目不同,表现出不同的分离比例。邓国富用紫叶稻IRI552与22个绿叶品种杂交, $F_1$ 、 $F_2$ 、 $BCF_1$ 、 $BCF_2$ 和 $F_3$ 群体的遗传分析结果表明,紫叶稻IRI552的紫叶性状由核内1对隐性紫叶基因( $pl-pl$ )和1对显性紫叶抑制基因( $Ipl-Ipl$ )控制,同时也受紫叶调节基因( $Ci-Ci$ )的作用;对紫叶基因及紫叶抑制基因定位的结果表明,隐性紫叶基因( $pl-pl$ )位于第6染色体标记RM587和RM584之间,紫叶抑制基因( $Ipl-Ipl$ )位于第1染色体SSR标记RM9和RM488之间<sup>[77]</sup>。紫叶稻材料大多数未能在生产上大面积推广应用,究其原因要么是温敏性太强,要么是配合力、稻米品质尚不够理想等<sup>[77-81]</sup>。

### 7.3 芽鞘紫线法

胚芽鞘是单子叶植物,特别是禾本科植物胚芽外的锥形套状物,有保护胚芽中更幼小的叶和生长锥的作用。在种子萌发时,能够看到的第一个器官便是胚芽鞘,胚芽鞘上表现的性状也是种子萌发后所能直接观察到的最早期性状。

水稻芽鞘紫线是在胚芽鞘两侧各出现的1条清晰可见的紫色线条。国内很多育种家试图将其运用于杂交种的纯度鉴定。1985年,沈又佳等发现化学杀雄制种的赣化2号杂交种芽鞘具有紫线,其母本IR24芽鞘无紫线,父本献党1号芽鞘有紫线。由于化学杀雄不彻底,杂交种中常混有母本IR24,因此他们提出通过观察芽鞘紫线鉴别杂交种中混入的母本种子<sup>[82]</sup>。富昊伟将芽鞘无紫线的三系不育系嘉浙A和中浙A与芽鞘有紫线的父本配组,杂种 $F_1$ 的芽鞘有紫线,据此在苗期可观察芽鞘紫线有无鉴别出杂交种中混入的不育系和保持系<sup>[83]</sup>。但这2种方法都无法将杂交种中混入的父本给区分开来,更没有能力区分串粉株和机械混杂株。

国外对于芽鞘紫线的遗传研究较早,印度学者Dhulap-panavar等利用T-160(芽鞘无紫线)和AC-177(芽鞘紫线)配置的 $F_2$ 群体,紫线对无紫线的分离比为195:61,认为该性状受2个显性重叠基因 $Pc1$ 、 $Pc2$ 和1个显性抑制基因 $I-Pc$ 、1个显性反抑制基因 $Ai-Pc$ 共4个基因控制<sup>[84-85]</sup>;印度的Maekeawa则认为该性状仅受2个显性互补基因 $Pc-1$ 、 $Pc-2$ 控制,与褐飞虱抗性连锁<sup>[86]</sup>。

1998年,席建民对5个杂交组合(母本均具有紫线、父本均为无紫线)进行遗传分析, $F_1$ 均表现出紫线, $F_2$ 紫线:无紫线分离比有9:7、15:1、63:1、3:14共4种类型,这表明紫

线遗传受多对基因调控<sup>[87]</sup>。2009年,张毅等对水稻芽鞘紫线的遗传分析发现了“双亲芽鞘无紫线但其F<sub>1</sub>有紫线”的现象,该现象由 *OsAi* 和 *OsCl* 2 对基因控制,并将 *OsAi* 和 *OsCl* 分别定为在 Chr. 11 (RM26384 和 C11Lz2 标记间) 和 Chr. 6 (RM5754 和 RM19570 之间,该区间的 *LOC\_Os06g10350* 为玉米的同源色素合成基因 C),同时提出了选育芽鞘无紫线而其他器官有紫色的不育系 (*Osai OsCl*) 和芽鞘无紫线且其他器官无紫色的恢复系 (*OsAi Osci*),实现双亲互补,配组芽鞘有紫线的杂交种,用于杂交种纯度检测的策略。与叶色法相比,该方法不仅可以区分杂交种中混有的不育系,还可以区分恢复系和无紫线种子的混杂,且芽鞘紫线在发芽后 3 d 就可观察到,近一步缩短了鉴定周期。但该方法与叶色法等其他方法一样,仍无法区分外来串粉和有紫线种子的机械混杂。因为绝大多数水稻都含有 *OsAi* 基因,串粉株也会表现为芽鞘紫线;且如果有芽鞘紫线种子发生混杂,在杂交种中也无法被识别出来。

## 8 结语

建立准确、快速、经济的检测方法监控杂交水稻纯度对于保障我国水稻安全生产具有至关重要的作用。海南田间种植鉴定是最古老的鉴定方法,因为其鉴定方法简单且结果直观,仍是当前最常用的鉴定方法,但是鉴定周期太长。粒型鉴定和苯酚染色鉴定,由于准确性差,在纯度检测上已不常用,只在区别品种间差异时会使用。蛋白质电泳法在部分种子仍有使用,但是普及率不高。DNA 分子标记技术由于其准确可靠,在种子纯度检测领域得到了大发展,随着 DNA 分子标记成本的降低、通量的进一步提高,DNA 标记技术会有更广阔的应用。实时荧光 PCR 技术具有美好的前景,可以把几百份样品混合为一个样品进行检测,大大减小了检测工作量,但是准确性仍需要提升,未来很有可能有新技术在该领域有突破。设计育种鉴定具有鉴定快速、准确、成本低的特点,但需要对杂交稻的亲本进行改良,使不育系携带易识别的隐性性状,且隐性性状不能影响到农艺性状,很多报道的可用于纯度检测的不育性并没能在大生产上大规模应用,可能与携带的隐性性状影响到农艺性状有关。该方法在鉴定两系杂交水稻种子过程中,因遇低温导致不育系自交结实,具有很大的应用空间。总体来讲,杂交水稻纯度鉴定方法的发展趋势是由鉴定周期长向鉴定周期短,由鉴定程序复杂向简单,由成本高向成本低的方向发展。

## 参考文献:

- [1] 辛良杰,李秀彬. 近年来我国南方双季稻区复种的变化及其政策启示[J]. 自然资源学报,2009,24(1):58-65.
- [2] 邓华凤. 中国杂交水稻[M]. 北京:中国农业出版社,2008.
- [3] 中国杂交水稻每年为世界多养 7 000 万人[N/OL]. 重庆晚报,2009-09-13.
- [4] 周天理,童学军. 杂交稻混杂退化问题[J]. 福建稻麦科技,1985(1):1-2.
- [5] 戴剑,李华勇,丁奎敏,等. 植物新品种 DUS 测试技术的现状与展望[J]. 种子,2007,26(9):44-47.
- [6] 李淑娟. 种子纯度鉴定方法概述[J]. 青海大学学报:自然科学版,2003,21(1):16-19.
- [7] 张辉,姜勇. 杂交水稻品种鉴定和纯度分析技术研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(20):9416-9419.
- [8] 滕开琼,戴钢,徐立新,等. 电泳技术在种子纯度鉴定中的几个关键问题[J]. 河南农业科学,2004(10):23-24.
- [9] 刘敏轩,王赞文,韩建国. 种子真实性及品种纯度蛋白质电泳鉴定技术研究进展[J]. 种子,2006,25(7):54-57.
- [10] 辛景树,郭景伦,张钦斌. 几种常用分子标记技术在种子纯度和品种真实性鉴定方面的比较与分析[J]. 种子,2005,24(1):58-60.
- [11] 严敏,王晓峰. 杂交玉米,水稻和辣椒种子品种真实性和纯度的室内快速鉴定[J]. 华南农业大学学报:自然科学版,2003,24(2):6-8.
- [12] 王晓峰,黄惠玲,超薄,等. 电聚焦电泳技术在水稻品种鉴定上的应用[J]. 种子,2000,11(4):6-8.
- [13] 陆士伟,黄柄权,邱章标,等. 应用酯酶同工酶测定水稻杂交纯度的研究[J]. 中国农业科学,1982,15(5):10-16.
- [14] 李卓杰,傅家瑞. 电聚焦电泳对杂交水稻种子纯度鉴定的技术[J]. 种子,1991(3):68.
- [15] 颜启传. 作物品种纯度检验的进展[J]. 种子,1984(2):61-63.
- [16] 颜启传. 杂交水稻种子及其二系的真实性与纯度鉴定[J]. 种子,1984(3):15-18.
- [17] 陶芳,李旭,陈龙英,等. 酯酶同工酶谱分析鉴定杂交水稻种子纯度技术初探[J]. 种子,1997(2):55-57.
- [18] 陶芳,陈龙英,夏承东,等. 杂交组合特优 559 室内纯度检测研究[J]. 江苏农业科学,2001(5):11-12.
- [19] 金伟栋,程保山,洪德林. 基于 SSR 标记的太湖流域粳稻地方品种遗传多样性研究[J]. 中国农业科学,2008,41(11):3822-3830.
- [20] 戴剑,洪德林. 试论 DNA 分子标记技术在植物新品种鉴定中的应用前景[J]. 金陵科技学院学报,2008,24(4):56-60.
- [21] 吴建梅,吴明霞,卢勤,等. 酯酶同工酶电泳法鉴定特有组合种子纯度效果研究[J]. 福建稻麦科技,2003,21(2):18-20.
- [22] 方宣钧,刘思衡,江树业. 品种纯度和真伪的 DNA 分子标记及其应用[J]. 农业生物技术学报,2000,8(2):106-110.
- [23] 辛业芸,张展,熊易平,等. 应用 SSR 分子标记鉴定超级杂交水稻组合及其纯度[J]. 中国水稻科学,2005,19(2):95-100.
- [24] 张凤,陈伟. DNA 指纹技术在杂交水稻种子纯度鉴定中的应用[J]. 种子科技,2006,24(4):37-39.
- [25] 李小林,邓安凤,徐雨然,等. 农业生物技术在水稻种子纯度鉴定中的应用[J]. 中国农学通报,2007,23(4):54-58.
- [26] 钱前,陈洪,孙宗修,等. 真假杂交水稻 II 优 63 的 RAPD 鉴定[J]. 中国水稻科学,1996,10(4):241-242.
- [27] 杨剑波,李莉,汪秀峰,等. 利用 RAPD 技术检测杂交稻种子纯度(II):协优 63 与其三系 DNA 扩增产物的区别[J]. 安徽农业科学,1996,24(4):297-298.
- [28] 谭孟君,肖层林. 分子标记在杂交水稻种子纯度鉴定中的应用[J]. 作物研究,2006,20(增刊 1):409-412.
- [29] 杨剑波,李莉,汪秀峰,等. 利用 RAPD/SCAR 和 SSR 技术快速鉴定杂交稻种子真伪与纯度的研究[J]. 云南大学学报:自然科学版,1999,21(2):24.
- [30] 李莉,杨剑波,汪秀峰,等. 利用 RAPD 和微卫星标记对协优杂交稻及其亲本进行区别与鉴定[J]. 中国水稻科学,2000,14(4):203-207.
- [31] 詹庆才. 利用微卫星 DNA 标记进行杂交水稻种子纯度鉴定的研究[J]. 杂交水稻,2002,17(5):46-50.
- [32] 李进波,牟同敏,夏建武,等. 利用微卫星标记鉴定两系杂交稻两优培胜的种子纯度[J]. 中国农学通报,2002,18(6):10-13.

- [33]李进波,方宣钧,杨国才,等. 两系杂交稻亲本 SSR 指纹图谱的建立及其在种子纯度鉴定中的应用[J]. 杂交水稻,2005,20(2):50-53.
- [34]苏顺宗,黄玉碧,杨俊品,等. 利用 SSR 鉴定水稻杂交种子纯度的研究[J]. 种子,2003(1):23-25.
- [35]彭锁堂,庄杰云,颜启传,等. 我国主要杂交水稻组合及其亲本 SSR 标记和纯度鉴定[J]. 中国水稻科学,2003,17(1):1-5.
- [36]施勇烽,应杰政,王磊,等. 鉴定水稻品种的微卫星标记筛选[J]. 中国水稻科学,2005,19(3):195-201.
- [37]时宽玉,洪德林. 6个水稻杂交组合与其亲本的 SSR 标记多态性及其应用[J]. 南京农业大学学报,2005,28(4):1-5.
- [38]程毅,朱水芳,陈红运,等. 三系杂交水稻真伪及纯度实时 PCR 技术的鉴定[J]. 农业生物技术学报,2007,15(2):295-300.
- [39]张集文,武晓智. 苯达松致死标记两用不育系 8077S 的选育及其应用[J]. 杂交水稻,2000,9(6):5.
- [40]张集文,武晓智. 隐性化学致死标记在两系法杂交水稻大面积推广中的应用[R]. 国家自然科学基金资助项目研究成果年报(生命科学),1999:25-26.
- [41]张集文,武晓智. 水稻光-温敏雄性不育系化学致死突变体的诱变筛选与初步研究[J]. 中国水稻科学,1999,13(2):65-68.
- [42]Pan G, Zhang X Y, Liu K D, et al. Map-based cloning of a novel rice cytochrome P450 gene *CYP81A6* that confers resistance to two different classes of herbicides[J]. Plant Molecular Biology,2006,61(6):933-943.
- [43]黄大年,李敬阳,章善庆,等. 用抗除草剂基因快速检测和提高杂交稻纯度的新技术[J]. 科学通报,1998,43(1):67-70.
- [44]马志虎,沈晓昆,宋春. 黄绿苗叶色标记技术在辣椒纯度鉴定及雄性不育中的应用[J]. 长江蔬菜,2003(1):36-38.
- [45]舒庆尧. 苗期携带白化转绿型叶色标记的细胞质雄性不育系白丰 A[J]. 今日科技,2004(6):59.
- [46]舒庆尧,陈善福,吴殿星,等. 新型不育系全龙 A 的选育与研究[J]. 中国农业科学,2001,34(4):349-354.
- [47]吴伟,刘鑫,舒小丽,等. 携带白化转绿型叶色标记两系杂交不育系 NHR111S[J]. 核农学报,2006,20(2):103-105.
- [48]杨文清,卢华金,林恭松,等. 标记不育系培塔 8S 选育初报[J]. 温州农业科技,2005(4):48-51.
- [49]杨文清. 培矮 64S 叶色标记突变体的研究进展[J]. 温州农业科技,2004(3):8-9.
- [50]沈圣泉,舒庆尧,吴殿星,等. 白化转绿型三系不育系白丰 A 的选育[J]. 杂交水稻,2005,20(5):10-11.
- [51]沈圣泉,舒庆尧,包劲松,等. 实用转绿型叶色标记不育系白丰 A 的应用研究[J]. 中国水稻科学,2004,18(1):34-38.
- [52]赵海军,吴殿星,舒庆尧,等. 携带白化转绿型叶色标记光温敏核不育系玉兔 S 的选育及其特征特性[J]. 中国水稻科学,2004,18(6):515-521.
- [53]吴殿星,舒庆尧,夏英武,等.  $^{60}\text{Co}-\gamma$  射线诱发的籼型温敏核不育水稻叶色突变系变异分析[J]. 作物学报,1999,25(1):64-69.
- [54]吴殿星,夏英武,舒庆尧. 植物叶绿素突变体的研究及其应用探讨[J]. 中国农学通报,1995,11(4):36-39.
- [55]陈善福,舒庆尧,吴殿星,等. 利用射线直接辐照诱发水稻龙特甫 B 叶色突变[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,1999,25(6):569-572.
- [56]陈善福,沈圣泉,吴殿星,等. 水稻叶色突变体的稻米理化品质和配合力分析[J]. 中国水稻科学,2001,15(4):261-264.
- [57]刘贵付,舒庆尧,夏英武. 籼型温敏核不育水稻转绿型白化突变体的利用价值研究[J]. 核农学报,1996,10(3):129-132.
- [58]Su N, Hu M L, Wu D X, et al. Disruption of a rice pentatricopeptide repeat protein causes a seedling-specific albino phenotype and its utilization to enhance seed purity in hybrid rice production[J]. Plant Physiology,2012,159(1):227-238.
- [59]董凤高,朱旭东,熊振民,等. 以淡绿叶为标记的籼型杂交水稻光敏核不育系 M2S 的选育[J]. 中国水稻科学,1999,9(2):65-70.
- [60]余新桥,罗利军,梅捍卫,等. 水稻标记不育系标 1A 的选育与应用[J]. 西南农业学报,2000,13(4):6-9.
- [61]宋克堡,宋泽观. 水稻淡黄叶突变体安农标 810S 的发现及初步研究[J]. 杂交水稻,2007,22(6):71-73.
- [62]曹立勇,钱前,朱旭东,等. 紫色标记籼型光-温敏核不育系中紫 S 的选育及其配组的杂种优势[J]. 作物学报,1999,25(1):44-49.
- [63]王军,王宝和,周丽慧,等. 一个水稻新黄绿叶突变体基因的分子定位[J]. 中国水稻科学,2006,20(5):455-459.
- [64]田振涛,薛庆中. 淡绿色标记水稻光-温敏核不育系开花习性[J]. 分子植物育种,2004,2(2):241-245.
- [65]杨腾帮,许旭明,张受刚. 具有隐性紫叶标记性状的籼型光敏核不育系明紫 02S 的选育[J]. 福建农业科技,2005(1):3-5.
- [66]杨腾帮,许旭明,张受刚,等. 隐性紫叶光温敏核不育水稻明紫 03S 的选育[J]. 福建农业科技,2005(5):54-56.
- [67]余显权,赵福胜. 紫绿叶稻与  $F_1$  光合色素的差异及其产量的关系[J]. 贵州大学学报,2002,21(1):6-10.
- [68]余显权,吴平理,赵福胜,等. 隐性紫叶水稻的改良及其应用探讨[J]. 贵州农业科学,2003,31(3):3-7.
- [69]吴关庭,王贤裕,金卫. 水稻温敏型紫叶突变体 PLM12 及其遗传研究[J]. 核农学报,2001,15(2):70-74.
- [70]石帮志,孙灿慧,陈丽平,等. 贵州紫香稻紫色性状的遗传规律及其在育种中的应用初探[J]. 种子,2002(2):29-30.
- [71]钱前,唐绿清,林建荣,等. 一种具有遗传特异性的紫叶稻及其在两系法杂交稻中的应用[J]. 浙江农业学报,1995,7(4):259-262.
- [72]曾大力,钱前,朱旭东,等. 紫叶稻遗传的特异性及其在诱导孤雌生殖中的作用[J]. 作物品种资源,1997(4):5-7.
- [73]李维明,潘润森,林光霖,等. 水稻叶色与若干农艺性状连锁遗传的分析[J]. 遗传,1994,16(5):35-39.
- [74]谢国生,蔡得田,马平福,等. 水稻显性紫色基因的遗传分析[J]. 湖北农业科学,1997(3):3-5.
- [75]潘学彪,陈宗祥,董桂春,等. 一种紫色水稻的遗传及其在光敏不育系育种中应用的研究[J]. 遗传,1995,17(3):31-34.
- [76]牟同敏,李春海,杨国才,等. 紫叶水稻苗期叶色的遗传研究[J]. 中国水稻科学,1995,9(1):45-48.
- [77]邓国富. 水稻紫叶性状遗传和基因定位的研究[D]. 南宁:广西大学,2007.
- [78]李云,康淮,余后理,等. 叶色标记在水稻育种及种子纯度鉴定上的应用进展[J]. 江西农业学报,2007,19(6):12-14,18.
- [79]赵福胜,余显权. 紫叶稻与绿叶稻杂种  $F_1$  产量优势分析[J]. 种子,2000(3):51-53.
- [80]任光俊,李青茂,彭兴富,等. 水稻紫色及两用核不育系雄性不育的遗传分析[J]. 北京农业大学学报,1993,19(增刊1):35-38.
- [81]彭长连,林植芳,林桂珠,等. 富含花色素苷的紫色稻叶片的抗光氧化作用[J]. 中国科学:C辑,2006,36(3):209-216.

鲁秀国,段建菊,罗 军,等. 非粮生物质吸附重金属离子的研究进展[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):11-14.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.003

# 非粮生物质吸附重金属离子的研究进展

鲁秀国,段建菊,罗 军,黄 明

(华东交通大学土木建筑学院,江西南昌 330013)

**摘要:**非粮生物质作为生物吸附剂极易交联产生活性基团,对废水中的重金属离子的吸附效果较好,本文着重综述了不同种类的非粮生物质作为天然或改性吸附剂对重金属离子的吸附研究,同时通过化学改性的方式来提高吸附剂对重金属离子的吸附性能,并对其未来的研究前景进行了探讨。

**关键词:**非粮生物质;重金属离子;吸附剂;化学改性;动力学

**中图分类号:** X703.1    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1002-1302(2016)06-0011-04

存在于水体中的大多数重金属都具有毒性、持久性和生物积累性等特点,因而处理这种环境污染的修复技术在治理领域中备受关注<sup>[1]</sup>。重金属(如镉、镍、汞、锌等)在水体中不容易被分解,只可转移它的存在位置或者改变它的物化形态,同时它可以通过食物链进入到人体内,并产生生物放大或生物积累现象,最终造成环境污染和影响人体健康<sup>[2]</sup>。采用传统的处理方法(离子交换法、膜处理技术法、化学沉淀法、电化学法和生物修复等)处理重金属废水具有成本较高、易产生二次污染等问题<sup>[3-4]</sup>。因而寻找能够高效处理这类废水的技术引起了国内外学者的兴趣<sup>[5-6]</sup>。吸附法工艺操作简便,对环境造成的二次污染小,且吸附剂可循环再生,对于深度处理低浓度重金属废水具有显著的优势。

非粮生物质具有价格低廉、来源广泛、易再生的优势,有独特的化学性质,是十分重要的生物质资源,如今已成为处理重金属废水的理想选择<sup>[4,7]</sup>。因此,选择不同的非粮生物质并根据其自身的结构特性制备生物吸附剂来处理重金属废水,在经济方面不但能够缩减成本,而且能够合理使用资源,在环保方面能够实现“以废治废”的效果。

## 1 非粮生物质的种类及特点

非粮生物质主要包括米糠、稻壳、秸秆、锯末、花生壳、橘子皮、玉米芯、废茶叶、甘蔗渣和坚果壳等材料<sup>[8]</sup>,组成成分主要包括纤维素、半纤维素、木质素、脂类、单糖、淀粉和蛋白

质等,这些材料中大多含有多种活性基团,重金属离子可以通过与其表面的自由活性基团络合而被吸附<sup>[9]</sup>。非粮生物质作为多孔性吸附剂材料,其孔隙率较高,比表面积较大,取材方便,来源广泛,机械强度较高,特定的化学性质使其对重金属离子的吸附效果较好<sup>[7]</sup>。

## 2 非粮生物质的吸附机理和化学改性

### 2.1 吸附机理

非粮生物质作为吸附剂对金属离子的吸附机理目前尚不明晰,但一般认为包括物理吸附、化学吸附、表面沉降、螯合作用、共价结合、范德华力、离子交换、静电吸引和扩散等过程<sup>[4,7,10-11]</sup>。非粮生物质含有丰富的纤维素、半纤维素和木质素等成分,它们可以提供多种活性官能团(羟基、羧基、羰基、氨基、巯基等),通过与吸附剂表面的自由活性基团与金属离子相互作用而达到去除重金属离子的效果<sup>[12]</sup>。在不同的吸附环境条件下,非粮生物质对金属离子的吸附机理既可以是单独吸附,也可以是多个作用力共同吸附的结果。Sha 等人在研究硫化锰改性橘子皮吸附废水中的  $Pb^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  的试验中发现,其吸附机理是离子交换和络合共同作用<sup>[13]</sup>。Feng 等人在研究氢氧化钠改性橘子皮吸附  $Cu^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  试验中发现,其吸附机理只是单一的离子交换作用<sup>[14]</sup>。

### 2.2 化学改性

改性的主要目的是通过使用化学试剂对非粮生物质进行预处理,降低木质纤维素的聚合度,使其表面的基团得到氧化还原而获得活化能,同时增加了官能团的电位和活性位点的数量,从而大大提高了吸附剂对重金属离子的吸附效果<sup>[15]</sup>。常用的化学改性剂有碱性试剂( $NaOH$ 、 $Na_2CO_3$  等)、酸性试剂( $H_2SO_4$ 、 $HCl$  等)和氧化剂( $H_2O_2$  等)。

收稿日期:2015-05-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:51168013);国家科技支撑计划(编号:2014BAC04B03)。

作者简介:鲁秀国(1964—),男,博士,教授,主要从事水污染控制技术。E-mail:149862562@qq.com。

[82] 沈又佳,陆作曙. 种子纯度鉴定方法的研究——“赣化2号”杂交水稻种子纯度的芽鞘色鉴定法[J]. 种子,1985(3):17-18.

[83] 富昊伟. 利用芽鞘及不完全叶颜色差别鉴定特定杂交组合种子纯度[J]. 杂交水稻,2002,17(4):27-27.

[84] Dhulappanavar C V, Hiremath A K, Sathyavathi G P. Linkage between a basic gene for anthocyanin pigmentation and a complementary gene for purple septum[J]. Euphytica, 1975, 24: 633-638.

[85] Dhulappanavar C V. Linkage studies in rice (*Oryza sativa* L.): flowering, growth habit and pigmentation[J]. Euphytica, 1979, 28: 435-443.

[86] Maekeawa M. Recent information on anthocyanin pigmentation[J]. Rice Genetics Newsletters, 1996, 13: 25-26.

[87] 席建民. 水稻芽鞘紫线的发现与研究[J]. 中国农业科学, 1998, 31(1): 96.