

## 紫外诱变对黑曲霉降解氯嘧磺隆能力的影响

陶波, 潘思杨, 王欢, 高世杰

(东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:** 采用紫外(UV)诱变方法对黑曲霉进行诱变,用高效液相色谱法测定菌株对氯嘧磺隆的降解率,系统研究了黑曲霉经紫外诱变后对氯嘧磺隆降解能力的影响。结果表明:经紫外(UV)诱变黑曲霉总变异率随UV强度和辐照时间的不同而不同,受时间影响较大,对黑曲霉最佳的紫外(UV)诱变条件为UV强度30 W、辐照时间150 s,此条件下黑曲霉的正变率为35.16%;紫外(UV)诱变可以显著提高黑曲霉降解氯嘧磺隆的速度,在UV强度30 W、时间150 s时黑曲霉对氯嘧磺隆的降解速度最大,氯嘧磺隆半衰期为7.76 h比原始菌株(24.86 h)缩短17.1 h。最终筛选出降解能力提高最显著的菌株H1,其降解能力比原始菌株提高73.16%,且连续培养10代后降解率均在89%左右,降解性能及生长速度稳定,可以稳定遗传。

**关键词:** 紫外(UV)诱变; 氯嘧磺隆除草剂; 黑曲霉; 微生物降解; 高效液相色谱

**中图分类号:** Q939.96; S143.92 **文献标识码:** A **DOI:** 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.03.0455

## Effect of UV Mutation on Chlorimuron-ethyl Degradation Ability of *Aspergillus Niger*

TAO Bo, PAN Si-yang, WANG Huan, GAO Shi-jie

(Agricultural College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** In this paper, the effect of ultraviolet mutagenesis on chlorimuron-ethyl degradation ability of *Aspergillus Niger* was systematic studied. Ultraviolet(UV) method is used to *Aspergillus Niger* mutagenesis, and a high performance liquid chromatography method was established for determination of the degradation rates of stain to chlorimuron-ethyl. The result showed that, induced mutation by ultraviolet(UV) the total aberration rates of *Aspergillus Niger* was varied with the UV intensity and irradiation time, greatly influenced by time, the best UV condition was 30 W and 150 s, positive mutation rate was 35.16%. The degradation rates of herbicide chlorimuron-ethyl by *Aspergillus Niger* was studied after UV mutagenesis. UV mutagenesis could significantly improve degradation rates of herbicide chlorimuron-ethyl by *Aspergillus Niger*, When the UV condition was 30 W and 150 s the degradation rate of *Aspergillus Niger* on chlorimuron-ethyl was the greatest, half-life of chlorimuron-ethyl shortened 17.1 h than before. Finally selected the most significant effect strains H1, its degradation ability increased by 73.16% than the original strains, and continued training after 10 generations degradation of performance and growth rate were stable and could be stable genetic.

**Keywords:** UV; Herbicide Chlorimuron-ethyl; *Aspergillus Niger*; Microbial degradation; HPLC

氯嘧磺隆(chlorimuron-ethyl)是20世纪80年代美国杜邦公司开发的一种磺酰脲类除草剂,属内吸传导型选择性除草剂。氯嘧磺隆在大豆种植中广泛使用,其残留药害问题严重影响后茬作物的轮种和经济结构的调整,在土壤中主要通过水解和微生物降解作用消失<sup>[1-2]</sup>。微生物对农药的降解具有重要作用,目前已分离得到多种能够降解农药的微生物类群。通过对其作用机理的研究,证实了微生物降解是环境污染治理的重要途径之一,具有良好的应用前景<sup>[3]</sup>。通过诱变选育优良的微生物降解菌株,可对土壤进行更加有效的修复。紫外线(UV)照射诱变是使用最早、应用历史最长的物理诱变方法之一,其诱变设备简单,操作性强。由于DNA和

RNA的嘌呤和嘧啶最大的吸收峰在260 nm,因此在260 nm的紫外辐射是最有效的诱变剂和致死剂。紫外辐射的作用已有多种解释,但比较确定的作用是使DNA分子形成嘧啶二聚体。近年来,诸多学者对黑曲霉、红曲霉、酿酒酵母、青霉、枯草芽孢杆菌等一系列菌株利用各种物理、化学及复合诱变技术进行诱变处理,得到了相应的新特性。潘涛等<sup>[4]</sup>在紫外诱变过程中筛选到一株稳定高产菌株,其产酸增加了51.33%;余秋生等<sup>[5]</sup>利用紫外诱变黑曲霉筛选出高产果胶酶菌种;程鹏飞等<sup>[6]</sup>研究了红曲霉菌种的紫外诱变和产色素的条件优化;李艾等<sup>[7]</sup>利用紫外诱变酿酒酵母筛选耐高温菌株;王丽宁等<sup>[8]</sup>利用原生质体紫外诱变技术选育耐高温香菇菌株;

收稿日期: 2015-10-15

基金项目: 国家自然科学基金(30971834)。

第一作者简介: 陶波(1963-)男,博士,教授,主要从事除草剂生物化学及应用技术研究。E-mail: botaol@163.com。

崔培梧等<sup>[9]</sup>利用紫外诱变青霉 P-M1,得到了稳定良好、柚苷酶产量大量增加的高产菌株;牛春华等<sup>[10]</sup>以枯草芽孢杆菌为出发菌株,利用紫外诱变的方法,获取了可高效发酵生产蛋白酶的突变株;张伟等<sup>[11]</sup>对表柔红霉素工程菌原生质体进行连续4次的紫外诱变育种,最终得到一株发酵单位较出发菌株提高了93.7%的突变菌株。

已有研究对降解菌的筛选只局限于从受污染的水体、土壤、污泥中驯化、分离降解菌,其降解能力虽然很强,但是如果将这些降解菌通过传统育种手段进行诱变并进行有效筛选之后,其降解能力可以得到更大幅度的提高,更加有利于除草剂的降解。目前对于农药降解菌紫外诱变研究的报道很少,只有杀虫剂降解菌进行紫外诱变有相关的报道。王永杰等<sup>[12]</sup>利用紫外诱变有机磷农药降解菌

地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*),筛选出突变菌株 P12,其对有机磷农药的降解能力比出发菌株提高了10%左右;王兆守等<sup>[13]</sup>对拟除虫菊酯类农药降解菌的紫外诱变进行了研究,所获突变体比出发菌株降解率提高了近20%。对于其他杀菌剂、除草剂农药降解菌还未见报道,本研究旨在利用紫外诱变的方法对降解菌进行诱变选育,为菌种的进一步纯化、优化提供依据,从而提高降解菌对除草剂的降解能力。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试菌种及培养基 供试降解菌株为黑曲霉(*Aspergillus niger*),由东北农业大学农药学教研室分离和保存,培养基见表1。

表1 供试培养基配方

Table 1 Tested medium

培养基类型 Medium type	培养基配方 Medium formula
察式液体培养基 Czapek dox liquid medium	蛋白胨 5 g、葡萄糖 20 g、硝酸钠 3 g、磷酸氢二钾 1 g、硫酸镁( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) 0.5 g、氯化钾 0.5 g、硫酸亚铁 0.01 g、蒸馏水 1 000 mL
马铃薯葡萄糖琼脂培养基 Potato dextrose agar medium	20% 马铃薯浸出液 1 000 mL、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g

1.1.2 药品与试剂 氯嘧磺隆 20% 可湿性粉剂、甲醇(色谱纯)、氯仿、水硫酸钠、石油醚、丙酮等试剂购自大连瑞泽农药有限公司。

1.1.3 仪器与设备 恒温培养箱为上海一恒科学仪器有限公司生产;超净工作台为北京东联哈儿仪器制造有限公司生产;高压灭菌锅 VP-S8037 为长春市百奥生物仪器有限责任公司生产;紫外灯为中国南京紫光电器有限责任公司生产;电磁搅拌器为上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司生产;HZQ-F100 振荡培养箱为哈尔滨市东联生化仪器有限公司生产;高效液相色谱仪型号为 Waters 2487;R-205 旋转蒸发仪为上海中胜有限公司生产;TGL-16G 超速冷冻离心机为上海安亭仪器公司生产;KL512 氮吹仪为东联仪器设备有限公司生产。

1.1.4 仪器分析色谱条件 液相色谱采用 Agilent-ZORBAXSB-C18 色谱柱(150 mm×4.6 mm 5.0  $\mu m$ ),不锈钢柱,柱温为常温,流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,紫外检测波长为 246 nm,进样体积为 20  $\mu L$ ,流动相为甲醇:水=8:2,保留时间为 6.14 min。

以氯嘧磺隆除草剂的浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得到回归方程  $y = 28067x - 302.68$  相关系数为  $r = 0.999$ 。结果表明,氯嘧磺隆在 0~10.0 mg·L<sup>-1</sup>

范围内具有良好的线性关系。

### 1.2 方法

1.2.1 降解菌孢子悬浮液的制备 取出保存降解菌黑曲霉菌株的察式斜面培养基,放置于 28℃ 恒温培养箱中培养 6 h。然后将菌株的孢子放入装有 10 mL 无菌水的三角瓶中,用电磁搅拌器搅拌 5 min,制成孢子悬浮液,然后取 1 mL 加入装有 9 mL 无菌水的试管中,依次稀释,将其稀释至孢子数量级为 10<sup>5</sup>。

1.2.2 紫外(UV)辐照 打开紫外灯预热 30 min,将培养皿平放在离紫外灯 30 cm(垂直距离)处照射 1 min 后打开培养皿盖,照射 1 min,然后将试管中的 10 mL 孢子悬浮液加入到培养皿(9 mL)中,并开始照射,辐照强度分别为 20、30 和 40 W,辐照时间分别为 30、60、150、300、600、1 200 s,以不照射为对照。

1.2.3 紫外(UV)辐照后死亡率的测定 将辐照后的孢子悬浮液在 0℃ 冷藏 1 h 并稀释 10<sup>3</sup>、10<sup>4</sup>、10<sup>5</sup> 倍后接种于用 PDA 制成的平板上,培养 72 h 后计数,计算死亡率,每处理 3 次重复。死亡率(%)=(对照-辐照处理)/对照×100

1.2.4 紫外(UV)辐照对降解菌变异率的影响 选

取紫外( UV ) 辐照后生长较好的、大小基本一致的单菌落 ,转移至 PDA 培养基平板上 ,并在 28℃ 培养 72 h。然后用 5 mm 打孔器选取大小一致的菌斑打孔并接种于氯嘧磺隆浓度为 10 mg·kg<sup>-1</sup> 的察氏液体培养基中 ,在 150 r·min<sup>-1</sup>、35℃ 振荡培养箱中培养 ,各处理均在 66 h 取样测定氯嘧磺隆浓度及菌体生长量。以原始菌株为对照 ,通过 HPLC 方法测定辐照后各处理降解率 ,定义对氯嘧磺隆降解能力提高的菌株为正突变株。

1. 2. 5 菌株降解效能稳定性测定 将诱变得到的 高效菌株在加药培养基中连续传种 10 代后 ,测定降解效能 ,每个菌株设 3 个重复。

1.3 数据分析

采用 Excel 2010 和 DPS V7. 05 对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 紫外( UV ) 辐照对黑曲霉死亡率的影响

由图 1 可以看出 ,黑曲霉的死亡率受紫外( UV ) 强度的影响较大 ,随着紫外强度和照射时间的延长 ,其死亡率逐渐增大。在紫外( UV ) 强度为 20 W 时 ,照射时间从 30 s 到 1 200 s ,其死亡率为 84. 5% ~ 96%; 在紫外( UV ) 强度为 30 W 时 ,照射时间从 30 s 到 1 200 s ,其死亡变化率为 92% ~ 97%; 紫外( UV ) 强度为 40 W 时对黑曲霉的致死率与 20 W、30 W 有很大差异 ,照射 30 s 时其死亡率为 97. 5% ,当照射时间超过 60 s 时 ,黑曲霉全部死亡。

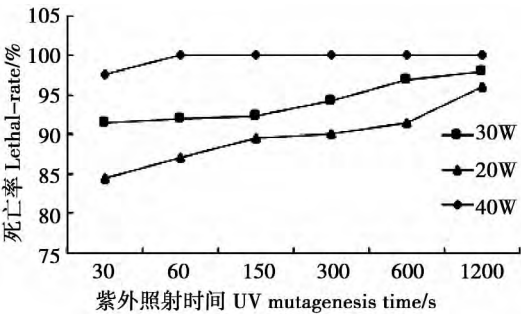


图 1 紫外诱变对黑曲霉孢子的致死率

Fig. 1 Lethal-rate of *A. niger* by UV mutagenesis

2.2 紫外( UV ) 辐照对黑曲霉的诱变效果

如表 2 所示 ,黑曲霉总变异率随 UV 强度和辐照时间的不同而异 ,受时间的影响较大。UV 强度 20 W 时 ,正变率区间为 20. 7% ~ 37. 35%; UV 强度为 30 W 时 ,正变率范围为 22. 51% ~ 35. 16%; UV 强度 40 W 照射 30 s 时 ,正变率为 31. 22%。所有处理中 UV 强度为 20 W、照射时间 600 s 的处理正变率最高 ,为 37. 35%。相对比而言 ,黑曲霉在 UV 强

度为 30 W 照射时间 150 s 的处理下正变率较高为 35. 16% ,且照射时间大幅缩短。

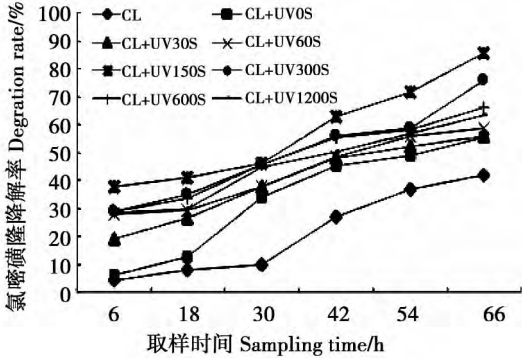
表 2 紫外对黑曲霉的诱变效果

Table 2 The effect of UV *A. niger* mutagenesis

UV 强度	照射时间	正变率
UV intensity /W	Mutagenesis time /s	Positive mutation rate /%
20	30	20. 70
	60	29. 59
	150	27. 19
	300	31. 59
	600	37. 35
	1200	36. 33
30	30	22. 51
	60	24. 00
	150	35. 16
	300	30. 30
	600	30. 30
40	30	31. 22

2.3 不同紫外( UV ) 诱变条件对黑曲霉降解氯嘧磺隆能力的影响

由图 2 可以看出 ,紫外( UV ) 强度为 20 W 时 , UV 照射时间为 150 s 时筛选出的降解菌株降解能力最强 ,第 66 小时原始菌降解率为 55. 54% ,而此处理降解率比原菌株提高 54. 43% ,在照射时间低于 150 s 时 ,随着照射时间的增加 ,降解能力有所提高; 在诱变时间高于 150 s 时 ,随着照射时间的增加 ,其降解能力有所降低。照射时间为 30 ,60 ,150 ,300 ,600 和 1 200 s 时氯嘧磺隆的半衰期分别为 19. 47 ,17. 94 ,11. 25 ,16. 36 ,20. 15 和 23. 86 h ,比黑曲霉原菌株分别缩短 5. 39 ,6. 92 ,13. 61 ,8. 5 ,4. 71 和 1 h ,在培养基中培养第 66 小时氯嘧磺隆的降解率分别是 56. 16%、58. 72%、85. 77%、75. 72%、66. 09% 和 63. 39% ,分别比原始菌株提高 1. 12%、5. 73%、54. 43%、37. 47%、19% 和 14. 13%。



CL 表示无降解菌添加的氯嘧磺隆处理。下同。

CL show chlorimuron-ethyl without *A. niger*. The same below.

图 2 UV20W 不同诱变时间对黑曲霉降解能力的影响

Fig. 2 Effect of different mutation time on degradation ability of *A. niger* by UV of 20 W

由图 3 可以看出, 30 W 紫外( UV) 照射时间为 150 s 时筛选出的降解菌株降解能力最强, 第 66 小时原始菌的降解率为 51. 65%, 而此处理降解率比原菌株提高 73. 16%。照射时间为 30, 60, 150, 300, 600 s 时其半衰期分别为 20. 77, 12. 20, 7. 76, 10. 71 和 24. 48 h, 比黑曲霉原菌株分别缩短 4. 09, 12. 66, 17. 10, 14. 15 和 0. 38 h, 在培养基中培养 66 h 时氯噻磺隆的降解率分别是 59. 7%、63. 37%、89. 04%、82. 62% 和 79. 18%, 分别比原始菌株提高 15. 59%、22. 69%、73. 16%、60% 和 53. 3%。同样照射时间的处理, UV 强度为 30 W 时比 UV 强度为 20 W 正效应更显著。

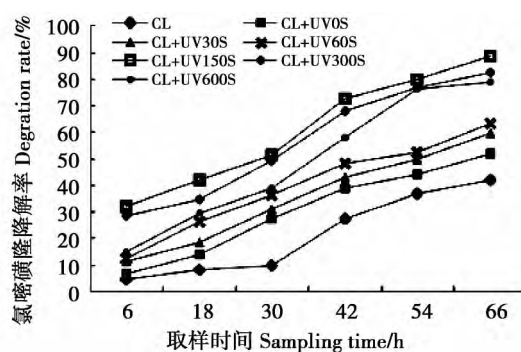


图 3 UV30W 不同诱变时间对黑曲霉降解能力的影响  
Fig. 3 Effect of different mutation time on degradation ability of *Aspergillus niger* by UV of 30 W

表 3 紫外诱变黑曲霉菌株降解动力学

Table 3 Kinetics date of *A. niger* by UV mutation

处理 Treatment	降解的力学方程 Degradation mechanical equation	相关系数 Correlation coefficient $R^2$	降解常数 Degradation constant $k/10^{-2}h$	半衰期 Half-life $T_{1/2}/h$
CL	$C_t = 11.777e^{-0.0967t}$	0.9159	0.0967	32.67
CL + UV0s	$C_t = 11.777e^{-0.1271t}$	0.9461	0.1271	24.86
CL + UV20W30s	$C_t = 10.513e^{-0.1564t}$	0.9589	0.1564	19.47
CL + UV20W60s	$C_t = 11.192e^{-0.1733t}$	0.9623	0.1733	17.94
CL + UV20W150s	$C_t = 15.815e^{-0.307t}$	0.9457	0.3070	11.25
CL + UV20W300s	$C_t = 10.891e^{-0.1883t}$	0.8865	0.1883	16.36
CL + UV20W600s	$C_t = 12.385e^{-0.1238t}$	0.9423	0.1593	20.15
CL + UV20W1200s	$C_t = 10.109e^{-0.126t}$	0.9390	0.1260	23.86
CL + UV30W30s	$C_t = 12.131e^{-0.1535t}$	0.9464	0.1535	20.77
CL + UV30W60s	$C_t = 12.554e^{-0.2642t}$	0.9844	0.2642	12.20
CL + UV30W150s	$C_t = 27.656e^{-0.517t}$	0.8080	0.5170	7.76
CL + UV30W300s	$C_t = 19.045e^{-0.3399t}$	0.9075	0.3399	10.71
CL + UV30W600s	$C_t = 10.852e^{-0.1257t}$	0.9486	0.1257	24.48
CL + UV40W30s	$C_t = 11.813e^{-0.1514t}$	0.9822	0.1514	20.89

从表 3 可以得知氯噻磺隆在培养基中的半衰期为 32. 67 h, 第 66 小时的降解率是 42. 13%; 添加黑曲霉降解菌之后, 氯噻磺隆的降解速度加快, 半衰期为 24. 86 h, 第 66 小时的降解率为 51. 65%。黑曲霉经过紫外( UV) 诱变后, 不同强度和时间均选出部分降解能力有所提高的菌株, 30 W 照射 150 s 时筛选出一株菌株降解能力高于其它诱变处理, 半衰期为 7. 76 h, 第 66 小时的降解率为 89. 04%, 比原始菌株提高 73. 16%。由此可以确定氯噻磺隆降解菌—黑曲霉的最佳诱变条件为 UV 强度 30 W, 时间 150 s, 并选育出降解能力明显提高的菌株—H1。

#### 2.4 紫外( UV) 诱变后黑曲霉稳定性研究

由表 4 可以看出, 黑曲霉连续进行 3 次紫外( UV) 诱变后筛选得到的降解菌株 H1 的降解特性可以稳定遗传。连续培养 10 代, 每一代在 66 h 时的降解率都在 89% 左右, 比原始黑曲霉菌株高 73. 16%; H1 的菌体在第 66 小时的菌体鲜重与黑曲霉相比没有显著差异, 均在  $30 g \cdot L^{-1}$  左右, 而且随着

代际的增加, 其菌体生长量没有显著变化, 说明 UV 诱变对筛选得到的菌株 H1 没有影响。

表 4 H1 连续繁殖 10 代的稳定性

Table 4 Study on the stability of *Aspergillus niger* after UV mutagenesis

	氯噻磺隆浓度 Concentration $/mg \cdot kg^{-1}$	第 66 小时 降解率 Degradation rate $/\%$	第 66 小时菌体 生长量 Mycelium growth $/g \cdot L^{-1}$
黑曲霉( 原始)	4. 84	51. 65	30. 3
第 1 代	1. 09	89. 04	29. 5
第 2 代	1. 06	89. 40	31. 8
第 3 代	1. 11	88. 90	32. 4
第 4 代	1. 04	89. 60	31. 9
第 5 代	1. 19	88. 14	33. 4
第 6 代	1. 06	89. 43	31. 6
第 7 代	1. 11	88. 94	32. 8
第 8 代	1. 16	88. 36	30. 9
第 9 代	1. 14	88. 64	31. 8
第 10 代	1. 09	89. 14	30. 2

### 3 讨 论

在被长期残留除草剂污染的土壤、水体或者污泥中含有大量可降解除草剂的微生物,经过富集、驯化等一系列人为手段进行分离、筛选之后,对除草剂有良好的降解效果。到目前为止,分离出的降解菌涉及广泛,种类有细菌、真菌、放线菌,除草剂有有机氯类、三氮苯类、苯氧羧酸类、二苯醚类、酰胺类、磺酰脲类、酰胺类、咪唑啉酮类等。就氯嘧磺隆而言,筛选出的降解菌菌种有黑曲霉、青霉、克雷柏氏菌、鞣丸酮丛毛单胞菌、酿酒酵母、枯草芽孢杆菌等<sup>[14-18]</sup>。这些菌种都是从被污染的载体中分离驯化而来,降解能力虽然有很大幅度的提高,但是都未曾尝试与诱变手段结合来改良菌种。诱变可以诱导微生物的遗传特性发生变异,被广泛应用于微生物方面,通过诱变,可以从多种多样的变异菌株中选出产量高、性状优良的突变株,如:用紫外诱变选育龙须菜抗逆速生优良品系<sup>[19]</sup>;利用紫外诱变菌株 S 对玉米秸秆中的木质素进行降解,其降解率比出发菌株提高 13.6%<sup>[20]</sup>。国内外在菌株育种方面,还有用微波诱变、钴射线、亚硝基胍等方法,但以紫外诱变较安全且简便易行。诱变所获优良菌株已在其作用能力和作用速率上比原始菌株大大提高。本研究利用紫外(UV)诱变黑曲霉后所获菌株降解氯嘧磺隆能力明显提高,其降解能力比原始菌株提高 73.16%,且连续培养 10 代后降解性能及生长速度均稳定,可以稳定遗传,这也证明通过诱变手段改良降解菌菌株的可行性,为通过微生物途径解决农药除草剂残留等环境安全问题提供理论依据。

### 4 结 论

UV 诱变可以显著提高黑曲霉降解氯嘧磺隆的速度。对黑曲霉最佳的 UV 诱变条件为强度 30 W、时间 150 s,其正变率为 35.16%,此条件下氯嘧磺隆半衰期比原始菌株(24.86 h)缩短 17.1 h。最终筛选出降解能力提高最显著的菌株 H1,其降解能力比原始菌株提高 73.16%,且连续培养 10 代后降解性能及生长速度均稳定,可以稳定遗传。

### 参考文献

- [1] 邹月利,陶波. 除草剂降解真菌对氯嘧磺隆的降解作用[J]. 土壤通报, 2013, 44(6): 1445-1448. (Zou Y L, Tao B. Research on the effects of different strains on the degradation of herbicide chlorimuron-ethyl[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2013, 44(6): 1445-1448.)
- [2] 滕春红,陶波,赵世君. 高效降解真菌对大豆田除草剂氯嘧磺隆的降解特性研究[J]. 大豆科学, 2006, 25(1): 58-61. (Teng C H, Tao B, Zhao S J. Study on degradation characteristics of fungi F8 to degrading herbicide chlorimuron-ethyl[J]. Soybean Science, 2006, 25(1): 58-61.)
- [3] 汪佳秀,张祥辉,穆文辉,等. 降解菌 2N3 对被氯嘧磺隆污染土壤的生物修复[J]. 农药学报, 2010, 12(1): 49-53. (Wang J X, Zhang X H, Mu W H. Bioremediation of chlorimuron-ethyl contaminated soil by strain 2N3[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2010, 12(1): 49-53.)
- [4] 潘涛,周剑,虞龙. 紫外诱变柠檬酸生产菌黑曲霉的选育[J]. 化学与生物工程, 2007(1): 50-52. (Pan T, Zhou J, Yu L. Breeding of citric acid producing bacteria *Aspergillus Niger* by UV mutation[J]. Chemistry and Bioengineering, 2007(1): 50-52.)
- [5] 余秋生,杨海波,杨冠军,等. 紫外诱变黑曲霉筛选高产果胶酶菌种[J]. 中国酿造, 2012, 31(6): 134-137. (She Q S, Yang H B, Yang G J, et al. Breeding of high pectinase-producing *Aspergillus niger* strain by UV mutagenesis[J]. China Brewing, 2012, 31(6): 134-137.)
- [6] 程鹏飞,农旭华,余晓玲,等. 红曲霉(*Monascus anka* As 3.782)菌种的紫外诱变和产色素的条件优化[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(9): 147-152. (Cheng P F, Nong X H, Yu X L, et al. UV mutagenesis and condition optimization for pigment production from *Monascus Anka* as 3.782 strain[J]. Food Research and Development, 2010, 31(9): 147-152.)
- [7] 李艾,李云凯,程磊. 紫外诱变酿酒酵母筛选耐高温菌株[J]. 唐山学院学报, 2013, 26(3): 35-37. (Li A, Li Y K, Cheng L. Screening of *saccharomyces cerevisiae* with temperature tolerance radiated by UV[J]. Journal of Tangshan College, 2013, 26(3): 35-37.)
- [8] 王丽宁,赵妍,张宝粉,等. 利用原生质体紫外诱变技术选育耐高温香菇菌株[J]. 微生物学通报, 2014, 41(7): 1350-1357. (Wang L N, Zhao Y, Zhang B F, et al. Breeding thermo-tolerant strains of *Lentinula edodes* by UV induced protoplast mutagenesis[J]. Microbiology China, 2014, 41(7): 1350-1357.)
- [9] 崔培梧,黎继烈,文蓉,等. 紫外线诱变青霉 P-M1 选育柚苷酶高产菌株研究[J]. 北方园艺, 2009(2): 42-44. (Cui P W, Li J L, Wen R, et al. Breeding of high-yield naringinase strain from *Penicillium* sp. P-M1 by UV mutation[J]. Northern Horticulture, 2009(2): 42-44.)
- [10] 牛春华,高岩,李玉秋,等. 紫外诱变选育高产蛋白酶枯草芽孢杆菌[J]. 中国酿造, 2011(12): 67-69. (Niu C H, Gao Y, Li Y Q, et al. Selection of high protease-producing strain of *Bacillus subtilis* by UV mutation[J]. China Brewing, 2011(12): 67-69.)
- [11] 张伟,尚珂,胡又佳,等. 表柔红霉素工程菌的构建及其原生质体紫外诱变[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(1): 20-23. (Zhang W, Shang K, Hu Y J, et al. Construction of an epidaunorubicin engineering producer and its protoplast mutagenesis by UV irradiation[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2009, 40(1): 20-23.)
- [12] 王永杰,李顺鹏,沈标,等. 有机磷农药降解菌的紫外诱变育种[J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5(6): 635-637. (Wang Y J, Li S P, Shen B, et al. Breeding by ultraviolet ray mutation of organophosphorous pesticides-degrading strain of *bacillus*[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 1999, 5(6): 635-637.)
- [13] 王兆守,梁小虾,林淦,等. 拟除虫菊酯类农药降解菌的紫外

- 线诱变[J]. 华东昆虫学报, 2003, 12(2): 82-86. (Wang Z S, Li S P, Lin J, et al. Mutation of synthetic pyrethroid insecticides-degrading strains by ultraviolet radiation[J]. Entomological Journal of East China, 2003, 12(2): 82-86.)
- [14] 刘辉. 霉菌对磺酰脲除草剂残留解毒效应的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003. (Liu H. Effect of *Asperilla* on the detoxification of sulfonylurea herbicide[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2003.)
- [15] 宋艳宇. 氯嘧磺隆在大豆田的残留动态及其降解菌的特性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2006. (Song Y Y. The residual dynamics in soybean, soiland isolation, identification of chlorimuron ethyl-degrading strain[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2006.)
- [16] 丁伟, 杨薇, 白赫, 等. 长残留除草剂氯嘧磺隆降解菌的筛选、鉴定和降解特性[J]. 作物杂志, 2007(4): 88-91. (Ding W, Yang W, Bai H, et al. The screening, identification and degradation characteristics of long residual herbicide chlorimuron-ethyl[J]. Crops, 2007(4): 88-91.)
- [17] 滕春红, 陶波. 氯嘧磺隆高效降解真菌 F8 的分离和鉴定[J]. 土壤通报, 2008, 39(5): 1160-1163. (Teng C H, Tao B. Isolation and identification of a fungi strain F8 capable of degrading chlorimuron-ethyl[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2008, 39(5): 1160-1163.)
- [18] 李丽, 谢明, 周淑云, 等. 氯嘧磺隆高效降解细菌的分离与筛选[J]. 中国生物防治, 2009, 25(1): 70-73. (Li L, Xie M, Zhou S Y, et al. Isolation and screening of chlorimuron-ethyl degrading bacteria from soil[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2009, 25(1): 70-73.)
- [19] 付峰. 龙须菜紫外诱变育种及抗逆速生优良品系的选育[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013. (Fu F. The ultraviolet mutagenesis breeding and selection of stress tolerance and fast growth strains of *Gracilaria lemaneiformis* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.)
- [20] 于长青, 李丽娜. 深黄被孢霉高产花生四烯酸菌株的紫外诱变原生质体育种[J]. 微生物学报, 2009, 44(1): 44-48. (Yu C Q, Li L N. Breeding of arachidonic acid producing *Mortierella sabellina* by ultraviolet mutation[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2009, 44(1): 44-48.)

## 农业部解读《关于促进大豆生产发展的指导意见》

农业部日前印发《关于促进大豆生产发展的指导意见》, 提出今后一个时期促进大豆生产发展的思路、目标和重点任务。农业部种植业管理司有关负责人就指导意见进行了详细解读。

### 1. 保持国内一定规模大豆生产是必要的

这位负责人说, 我国是大豆原产地, 种植历史悠久, 消费文化底蕴深厚。近些年, 大豆生产出现下滑。主要原因一个是, 水稻、玉米等高产作物效益明显好于大豆, 挤压了大豆生产; 另一个是, 进口大豆逐年增加, 冲击了国内大豆生产。

在这样的背景下, 要不要发展大豆生产, 这是一个现实问题。农业、营养等方面的专家认为, 保持国内一定规模的大豆生产是必要的。主要基于以下考虑:

第一, 大豆是城乡居民植物蛋白消费的重要来源。每 100 g 大豆含蛋白质 40 g 左右, 素有“田中之肉、营养之王”的美誉。专家分析, 国产大豆仍是食用大豆的主体, 其中 80% 多加工成豆制品、调味品。

第二, 在东北地区推行大豆与玉米轮作倒茬, 可实现用地养地结合, 促进可持续发展。

第三, 大豆是调整优化种植结构的重要替代作物。适当调减非优势区玉米, 改种大豆等作物, 既能化解玉米过剩库存, 又增加产需缺口较大的大豆供应。

### 2. 到 2020 年大豆面积达到 1.4 亿亩

指导意见提出, 到 2020 年大豆面积达到 1.4 亿亩, 比目前增加 4000 万亩。

这位负责人表示, 通过调整优化种植结构, 扩种大豆是有潜力的。

立足我国的资源条件和消费需求, 今后一个时期, 我国大豆生产发展定位是, 满足国内食用大豆需求。目的不是追求大豆自给水平, 也不是与进口大豆抗衡, 而是形成国产大豆与进口大豆错位竞争、相互补充的格局。进口大豆主要补充食用植物油和饲料蛋白的缺口; 国产大豆主要用于制作传统豆制品和调味品。

### 3. 六项措施促进大豆生产稳定发展

这位负责人表示, 促进大豆生产发展是推进农业供给侧结构性改革的重要任务。农业部将全力促进大豆生产稳定发展, 重点抓好以下六项工作。

一是调整优化区域布局。实施《全国种植业结构调整规划》, 完善《大豆优势区域布局规划》, 引导资金、技术、人才向优势区域集中。

二是大力推进科技创新。加快育种创新, 选育高产优质多抗的突破性品种, 集成组装高产高效技术模式。

三是强化大豆政策扶持。完善大豆目标价格政策, 合理确定目标价格, 稳定农民收益预期。开展耕地轮作制度试点, 支持东北冷凉区和农牧交错区推行玉米大豆轮作, 探索建立用地养地结合的轮作制度。

四是建立优质大豆保护区。根据资源禀赋、区位优势、产业基础, 加快建立东北优质大豆保护区, 保护种质资源、生产能力和生产主体。

五是加强大豆市场调控。加强分析预警, 建立大豆供需信息发布机制。健全大豆进口信息发布制度, 引导市场投资预期。强化进口大豆监管, 严格执行检验检疫标准。

六是科学引导健康消费。扩大国内优质大豆消费市场, 为促进大豆生产发展营造良好环境。

转自新华社