

赵丽红,陈威,高艳娇,等. 基因组重排技术在微生物育种中的应用研究进展[J]. 江苏农业科学,2018,46(18):1-5.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.18.001

基因组重排技术在微生物育种中的应用研究进展

赵丽红,陈威,高艳娇,肖静

(辽宁工业大学土木建筑工程学院,辽宁锦州 121001)

摘要:基因组重排技术是在传统诱变技术和细胞融合技术基础上发展而来的,是对整个微生物基因组的重排,来选育具有优良性状菌株的新型育种技术。基因组重排技术在无须了解工程菌遗传背景的情况下通过多亲本原生质体递归融合,可以使工程菌快速得到优良表型。综述了基因组重排技术的原理、优势以及微生物育种及获得代谢产物等方面应用的研究现状,并展望了基因组重排技术的发展前景。

关键词:基因组重排技术;原生质体融合;微生物育种;工程菌

中图分类号: Q784 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)18-0001-04

微生物资源具有可再生性,其开发利用具有广阔的前景。选育具有优良性状、高产等性能的优良菌株,是开发利用微生物资源的首要任务。然而野生菌株一般很难达到工业生产的要求,所以需要一定的育种方法对野生菌株进行改良,以得到具有所需优良性状的菌株。目前传统育种技术操作简单,也比较成熟,但是获得目的性状菌株的过程复杂、耗时长、工作量巨大、效率低、盲目性高。现代分子生物学手段虽然取得了一定的发展,但是须要对微生物进行定向的基因操作,技术要求十分高,欠缺基因型和表型相应的背景,不利于广泛推广。基因组重排技术在这样的背景下应运而生。Zhang等在2002年首次提出基因组重排技术,其基本原理是基于原生质体融合技术将多个亲本的全DNA基因组进行重组,从而快速得到具有融合各亲本优良性状的子代。他们成功将该技术用于提高弗氏链霉菌合成泰乐菌素的能力,并取得了显著成果,使弗氏链霉菌合成泰乐菌素的能力得到极大提高^[1]。

基因组重排技术是一种在分子定向进化基础上发展而来的新型分子育种技术,它将重组的对象从单个基因扩展到整个基因组,从双亲本扩展到多亲本,从一轮原生质体融合扩展到多轮原生质体融合,因此可以对菌株的目的性状进行更快以及更大范围的优化组合^[2]。

1 基因组重排的方法与原理

基因组重排技术主要由构建亲本库、原生质体递归融合、目的表型的筛选3个过程组成。每个过程都有自己的特点和一定的技术手段。Gong等给出了基因组重排技术的操作流程^[3],如图1所示。

1.1 构建亲本库(parental library)

基因组重排技术的初始菌株应该包含更多的基因型,收集相关菌株以形成亲本库,能为后面的原生质体融合提供可靠的基础。初始菌株的种群多样性和菌株丰富的表型是进行基因组重排技术的第一步。

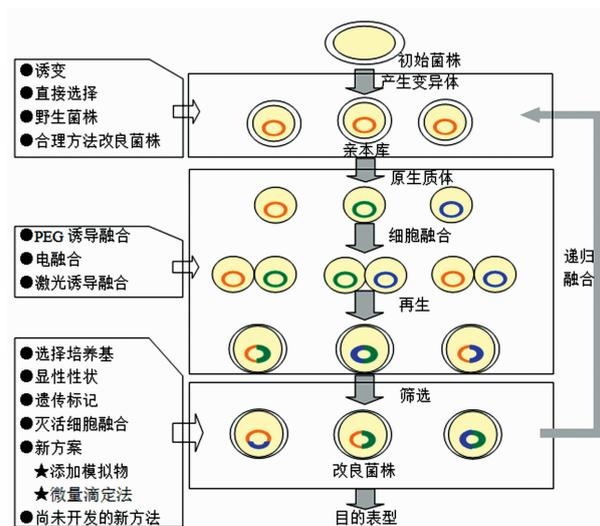


图1 基因组重排过程

目前构建亲本库的主要方法还是经典的方法如突变和直接筛选等,其中突变是获得丰富基因型的主要方法,在这个过程中,须要使用化学诱变剂或者物理诱变方式对原始菌株进行诱变处理。如刘源慧分别利用紫外诱变和微波诱变方法对米曲霉(*Aspergillus oryzae*) FS-16进行诱变,从得到的诱变菌株中选取 α -淀粉酶产量较高的突变株与原始菌株FS-16作为亲本,然后进行基因组重排,最后得到 α -淀粉酶酶活较高的子代菌株^[4]。

构建亲本库时,为了获得丰富的基因型主要是采用组合的方式。筛选菌株的主要方法根据目的表型,比如产量和环境耐受性等。可是菌株的生长性状也应该被给予足够的重视,因为拥有较高产量和环境耐受性菌株的生长性状可能会受到损害。因此,构建亲本库时应采集野生菌株,以促进复杂子代的生长特性。其次,通过合理的方式获得的菌株也可以作为基因组重排的发菌株。应用合理的筛选方法可以扩大亲本菌株的筛选范围,从而能增大经过基因组重排技术处理后获得目的表型的概率。

1.2 原生质体的递归融合(recursive protoplast fusion)

基因组重排是基于原生质体融合技术(protoptast fusion)

收稿日期:2017-05-11

基金项目:国家自然科学基金(编号:51408290)。

作者简介:赵丽红(1974—),女,辽宁锦州人,博士,教授,从事污水生物处理研究。E-mail:zhaolh05@163.com。

的育种技术。原生质体的多轮递归融合使细胞之间的基因转移频率大大增加。在原生质体的递归融合过程中,来自亲本的原生质体经历混合(mix)、融合(fusion)、再生(regeneration)等过程。然后从再生的原生质体中选出性状优良的菌株,作为下一轮原生质体融合的出发菌株。同时亲本菌株基因的多样性在原生质体递归融合的操作下能够被扩充到子代中,这样有利于得到目的表型。

经典的基因组重排技术主要依赖于PEG(聚乙二醇)诱导原生质体融合,但PEG诱导存在效率低、重组菌不稳定、易退化、须制备双亲本原生质体等缺点,这极大阻碍了基因组重排在微生物中的育种应用。目前,使用化学药剂和电脉冲法诱导原生质体融合是主要的方法。Skelley等在细胞融合前利用微流体装置对细胞进行排列,这很大程度上提高了原生质体融合的效率^[5],同时原生质体的再生率也是基因组重排取得成功的关键。Imada等研究表明,原生质体的再生率在液体再生培养基中优于固体平板^[6]。

1.3 目的表型的筛选(selection of desired phenotype)

确保基因组重排技术成功的重要步骤是目的表型的筛选。尽管可以在特定的培养基上培养子代以获得特定的抗性菌株,但是过量代谢产物的产生一直以来都被认为是进行表型筛选的难点。传统筛选改良菌株的方式取决于菌株的生理生化特性,如在琼脂平板上的水解圈、透明圈和抑菌圈等。John等利用乳酸融合菌能够直接水解淀粉这一特性,根据乳酸融合菌水解淀粉产生的透明圈的大小筛选出了高产乳酸融合菌^[7]。另外,利用遗传标记的方法也可以筛选融合菌株。Dai等利用菌体营养缺陷型的遗传标记成功标记了革兰氏阴性细菌的目的融合子^[8]。

通过灭活原生质体筛选融合子的方法也有一定应用,原生质体通过加热或紫外线照射最终达到灭活的目的。理论上,一种特定的灭活方式可能在染色体的同一位点带来损害,如果几个亲本原生质体采用同样的方法灭活,将会给融合子再生带来困难;但是染色体上不同位点的损伤却可以得到互补修复,所以一般需要采用不同灭活方式提高融合子再生率。Kang等分别采用紫外线和热灭活的方式处理亲本原生质体,最终筛选出理想的表型融合子^[9]。近年来,高通量的筛选方法得到了很快发展,如荧光激活细胞分选技术、液相色谱质谱法等,这些新技术使融合子的筛选效率得到了显著提高。

2 基因组重排技术的优势

传统育种方法曾发挥着很大的作用,但缺点是工程量巨大、耗时长且难以获取复杂表型^[10-12]。作为新兴的育种技术,基因组重排在微生物育种方面拥有许多传统育种技术所无法比拟的优势。

2.1 基因组重排技术是多亲本基因水平上的转移

基因组重排技术能够实现多亲本基因水平上的转移。利用原生质体融合技术的优点,以实现多亲本、远源亲本间的基因组转移、重排,很大程度上增加了多重优良性状在子代出现的概率。如Yamashita等通过灰色链霉菌和天神岛链霉菌种间基因组重排,筛选到1株重组子菌株,此菌株可产生抗生素吡啶唑霉素(indolizomycin)^[13]。王航等将筛选到的链霉素抗性菌株(Str-70)与庆大霉素抗性菌株(Gen-139)作为出发

菌株进行多轮基因组重排,最终得到的菌株(SG4-34)同时具有2种抗性且多杀菌素产量与原始菌株相比提高6倍^[14]。

2.2 基因组重排技术避免菌株产生“疲劳效应”

传统诱变育种技术由于长期使用诱变剂,菌株自身抗性会得到增强,最终造成菌株产生“疲劳效应”。基因组重排是利用原生质体递归融合技术来改良的菌株,整个过程只有1次诱变,所以避免产生“疲劳效应”等现象。

2.3 基因组重排技术快速高效

传统诱变育种是对单一原始菌株用传统的诱变方法进行诱变,以得到有利的突变性状,过程繁琐、时间漫长且存在较大的盲目性。基因组重排技术获得正突变菌株只须1次诱变,然后利用原生质体递推式融合技术改良菌株,这个过程涉及多亲本全基因组范围的遗传信息交换,获得正突变性状的速度大大提高,同时也更加高效。如Zhang等发现,对菌株进行2轮基因组重排所达到的成果,相当于传统诱变育种需要20年才能完成^[1]。

2.4 基因组重排技术简化了育种过程

通过定向进化工程、DNA重组技术、生物学和代谢工程手段等,虽然也可以获得理想的优良性状,从而实现定向进化,但是这些技术须要巨大的人力物力去了解目标菌株的遗传背景与规律。基因组重排技术的对象是亲本的全基因组,进行随机交换重组,并筛选出带有目的性状的优良菌株,这个过程不用了解微生物的遗传背景,省去了大量繁重的工作,极大地提高了育种速率与效率。

3 基因组重排技术的应用

基因组重排技术经过十几年的发展充分融合了细胞工程和诱变育种的特点,在微生物育种以及获得代谢产物等方面体现出了很明显的优势。而且基因组重排技术在提高菌株代谢产物产率、增强菌株耐受性、提高底物利用率和范围以及改造微生物的代谢途径等方面均取得了较大的发展。

3.1 提高产物产率

基因组重排技术可以快速得到带有目的表型的菌株,同时可以有效地优化、调节多基因控制的性状,以提高菌株的产量。目前,在提高代谢产物产率方面已经有了许多成功的应用。

El-Gendy等以诺卡氏菌阿莱2000菌株为原始菌株,通过基因组重排技术筛选出绦霉素产量很高的目的菌株。首先通过传统的诱变技术在原始菌株的基础上得到改良菌株,在改良菌株的基础上又进行基因组重排,并以绦霉素产量作为筛选指标,通过3轮基因组重排后最终得到目的菌株,目的菌株的绦霉素产量是原始菌株的19倍,是改良菌株的1.9倍^[15]。Zheng等利用浓缩的高效液相色谱法筛选出产生丁二酸浓度较高的菌株,然后将所筛选的菌株作为初始菌株,经过3轮基因组重排,得到子代菌株丁二酸的产量比亲本菌株提高约73%^[16]。Chalopagorn等利用基因组重排技术提高嗜热芽孢杆菌属的脂肪酶产量,将芽孢杆菌属CF03菌株经过紫外线照射和甲磺酸乙酯(EMS)诱变,以所获得的诱变菌株为初始菌株,经过2轮基因组重排,得到融合菌株(FB1),与野生型菌株相比,FB1菌株的生长率和脂肪酶的产量最高分别增加了150%和238%^[17]。表1总结了基因组重排技术在提

表 1 基因组重排技术在提高产物产率方面的应用

微生物	研究结果	参考文献
链霉菌属 (<i>Streptomyces</i> sp.) U121	成功得到 1 株生长率为原始菌 3.5 倍、羟基柠檬酸产量为原始菌 4 倍的融合菌株	Hiroyuki 等 ^[18]
树状多节孢 (<i>Nodulisporium sybiforme</i>)	成功选育出遗传稳定的高产紫杉醇菌株, 子代菌株的紫杉醇产量比出发菌株提高了 64.41%	赵凯等 ^[19]
绿色木霉 (<i>Trichoderma viride</i>)	利用紫外线照射、低能离子束注入等传统诱变方法得到突变体, 以突变体为出发菌株, 经过 2 轮基因组重排获得目的菌株绿色木霉 F161, 纤维素酶总酶活是野生株绿色木霉 TL-124 总酶活性的 1.97 倍	Xu 等 ^[20]
链霉菌 (<i>S. mycarofaciens</i>)	经过 2 轮基因组重排试验成功选育出了高产且遗传稳定的麦迪霉素生产菌株	朱岩等 ^[21]
约氏不动杆菌 (<i>Acinetobacter johnsonii</i>)	通过 2 轮基因组重排后大幅度提高了约氏不动杆菌的低温碱性脂肪酶的产量	Wang 等 ^[22]
玫瑰孢链霉菌 (<i>S. roseosporus</i>)	经过 4 轮基因组重排, 得到了达托霉素产量较高且遗传稳定的融合菌株	Yu 等 ^[23]
黑霉菌 (<i>Aspergillus niger</i>)	筛选出具有很高转昔酶活性的黑曲霉子代菌株, 其转昔酶的活性与初始菌株相比提高了 194.1%	Li 等 ^[24]
短乳杆菌 (<i>Lactobacillus brevis</i>)	筛选出诺西肽产量很高的活跃链霉菌菌株, 其中 1 株融合菌株的诺西肽产量是亲本菌株的 9.2 倍	Wang 等 ^[25]
刺糖多孢菌 (<i>Saccharopolyspora spinosa</i>)	利用基因组重排技术获得了高产多杀菌素且遗传稳定的融合菌株, 其多杀菌素产量较出发菌株提高了 36.07%。	夏燕春等 ^[26]
短乳杆菌 (<i>L. brevis</i>)	选育胸苷磷酸化酶活性高的短乳杆菌	Li 等 ^[27]
刺糖多孢菌 (<i>Saccharopolyspora spinosa</i>)	通过基因组重排与抗生素耐药性相结合的方法, 筛选出多杀菌素产量是亲本菌株 6.6 倍的高产菌株	Wang 等 ^[28]
异常毕赤酵母 (<i>Pichia anomala</i>)	通过基因组重排技术最终得到 1 株高产糖醇的异常毕赤酵母 GS2-3, 其糖醇产量比原始菌株高了 32.3%	Zhang 等 ^[29]

高产物产率方面的应用。

3.2 增强菌株对环境的耐受性

目前, 基因组重排技术在增强菌株对酸、盐、产物、底物、溶解氧、副产物及温度等因素的耐受性方面已有很多成功的应用。Patnaik 等利用基因组重排技术筛选出了耐酸性更强的乳酸菌菌株^[30]。Dai 等利用基因组重组技术成功得到了能耐受 8 mmol/L 五氯苯酚 (PCP) 的融合子, 并且此融合子能够在 48 h 内完全降解 3 mmol/L PCP^[31]。2008 年王立梅等利用基因组重组技术得到了能够在 pH 值为 3.6 的环境下生长且 L-乳酸产量达到 5.67 g/L, 发酵温度达到 40 °C 的菌株^[32]。Cao 等以异常汉逊酵母菌株作为原始菌株, 通过 3 轮基因组重排得到目的菌株, 其具有很高的耐盐性能和 pH 值生长范围^[33]。Zheng 等以来自原始菌株酿酒酵母的紫外线突变体为出发菌株, 经过 2 轮基因组重排得到重组菌株 YZ2, 此重组菌株在乙酸压力下显示出更快生长速度和细胞生存能力^[34]。Zheng 等在谷氨酸棒状杆菌原始菌株的基础上经过紫外线照射和耐高温等传统诱变技术手段筛选出 5 株菌株, 将此 5 株菌株又通过 3 轮基因组重排技术得到 1 株目的菌株, 经过试验与分析, 目的菌株的 L-谷氨酸的产量比原始菌株产量提高了 1.8 倍, 耐热性也得到了提高^[35]。黄俊等采用基因组重排技术有效而快速地获得了在产乙醇能力和乙醇耐受力方面都更好的里氏木霉菌株^[36]。Li 等通过连续 4 轮基因组重排, 获得丙酮丁醇梭菌的融合菌株, 融合菌株在耐热性、溶剂耐受性及环境稳定性方面比野生菌均有进一步提高^[37]。

3.3 提高底物利用率及其范围

微生物对底物的利用率和范围是菌株非常重要的目的表型, 基因组重排技术在提高微生物底物利用率及范围方面也有着重要的成果。如 John 等以德氏乳酸杆菌和产淀粉酶的枯草芽孢杆菌为亲本菌株, 利用基因组重排技术, 筛选到了能直接转化淀粉为乳酸的子代菌株^[7]。Zhao 等将轮枝霉

(*Diasporangium* sp.) 和黑曲霉作为亲本菌株, 利用基因组重排技术得到的新菌株可以利用全部 8 种碳源, 而亲本仅仅能利用 4 种碳源^[38]。Kang 等把出芽短梗霉 (*Aureobasidium pullulans*) N3.387 作为基因组重排出发菌株, 通过基因组重排后获得融合菌株 F3-2, 相比于野生菌株, 融合菌株对底物的利用率提高了 29.0%^[39]。Zhou 等利用基因组重排技术, 从链霉菌中筛选出不仅 ϵ -聚赖氨酸产量高, 且对产物 ϵ -聚赖氨酸具有一定抗性的融合菌株^[40]。

3.4 改造微生物的代谢途径

在基因组重排技术中随着整个基因组片段的重排, 可以使细胞表型得到快速改进, 细胞的代谢途径也可以得到一定的优化。基因组重排能够激活菌株内部某些沉默基因而获得新的代谢产物。如 Wang 等在利用基因组重排技术提高瘤座霉属 (*Tubercularia* sp. TF5) 菌株的紫杉醇产量试验中, 在子代融合子的代谢产物中发现了 8 种新结构的物质。这些物质与直接亲本和原始菌株所产的同类物质结构均不同, 这说明子代融合子所产生的新物质是基因组重排后某些沉默基因被激活表达造成的^[41]。Cao 等对鲁氏接合酵母 (*Zygosaccharomyces rouxii*) 进行 3 轮基因组重排后获得 1 株融合菌株, 其能产生亲本菌株无法产生的新的化合物^[42]。

4 展望

基因组重排技术的研究对象为微生物细胞内整套基因组, 不须要探究菌株的遗传背景, 利用多轮循环式基因组重排筛选, 将多个优良性状集中到子代目的菌株中, 这是传统育种技术、原生质体融合技术和 DNA 重排技术所不具有的独特优势, 是微生物育种技术中的具有里程碑式意义的进步。正突变基因库的建立是基因组重排技术中关键一步, 其多样性以及与目的性状的相关性直接关系到重排能否成功, 所以正突变基因库的构建方面还需要更多的探索。传统的化学融合、

电融合等融合效率较低,新兴的融合技术如微流体技术、激光诱导技术等虽然融合效率较高,但是使用范围较窄,所以可能还要进一步探索新的原生质体融合技术。在融合子的筛选方面,目前常用的方式是热灭活与紫外灭活标记,这2种方式会对原生质体带来一定的生理损伤,影响融合效率,因此还要高通量的筛选方法来保证基因重排技术的进一步发展。目前,尽管基因组重排技术在克服不同亲本细胞重组成功率较低问题,以及高效筛选融合菌株等方面还存在一定程度的挑战,但是随着基因组重排技术与其他生物技术如代谢工程、基因组学等相结合以及多种高通量、高效率筛选策略的出现,基因组重排技术将会有更快的发展和更广阔的应用。

参考文献:

- [1] Zhang Y X, Perry K, Vinci V A, et al. Genome shuffling leads to rapid phenotypic improvement in bacteria [J]. *Nature*, 2002, 415 (6872): 644 – 646.
- [2] 王丽宁, 赵妍, 奚丽萍, 等. 基因组重排技术及其在真菌育种中的应用[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(18): 362 – 365.
- [3] Gong J X, Zheng H J, Wu Z J, et al. Genome shuffling: progress and applications for phenotype improvement [J]. *Biotechnology Advances*, 2009, 27(6): 996 – 1005.
- [4] 刘源慧. 应用基因组改组技术选育真菌 α - 淀粉酶高产菌株[D]. 福州: 福建师范大学, 2011: 41 – 54.
- [5] Skelley A M, Kirak O, Suh H, et al. Microfluidic control of cell pairing and fusion[J]. *Nature Methods*, 2009, 6(2): 147 – 152.
- [6] Imada C, Ikemoto Y, Kobayashi T, et al. Isolation and characterization of the interspecific fusants from *Streptomyces* obtained using a liquid regeneration method[J]. *Fisheries Science*, 2002, 68(2): 395 – 402.
- [7] John R P, Gangadharan D, Nampoothiri K M. Genome shuffling of *Lactobacillus delbrueckii* mutant and *Bacillus amyloliquefaciens* through protoplasmic fusion for L - lactic acid production from starchy wastes[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(17): 8008 – 8015.
- [8] Dai M, Ziesman S, Ratcliffe T, et al. Visualization of protoplast fusion and quantitation of recombination in fused protoplasts of auxotrophic strains of *Escherichia coli*[J]. *Metabolic Engineering*, 2005, 7(1): 45 – 52.
- [9] Kang J X, Chen X J, Chen W R, et al. Enhanced production of pullulan in *Aureobasidium pullulans* by a new process of genome shuffling[J]. *Process Biochemistry*, 2011, 46(3): 792 – 795.
- [10] 李荣杰. 微生物诱变育种方法研究进展[J]. *河北农业科学*, 2009, 13(10): 73 – 76, 78.
- [11] 吴帅, 陈叶福, 沈楠, 等. 高耐性酿酒酵母的杂交育种[J]. *酿酒科技*, 2006(10): 20 – 26.
- [12] 宋春艳, 刘德云, 尚晓冬, 等. 香菇杂交新品种“中香16号”的选育及示范推广[J]. *食用菌学报*, 2010, 17(4): 11 – 14.
- [13] Yamashita F, Hotta K, Kursawa S, et al. New antibiotic - producing *Streptomyces*, Selected by antibiotic resistance as a marker. I. New antibiotic production generated by protoplast fusi on treatment between *Streptomyces griseus* and *S. tenjimariensis* [J]. *The Journal of Antibiotics*, 1985, 38(1): 58 – 63.
- [14] 王航, 杨君, 薛薇, 等. 利用抗生素抗性筛选技术和基因组重排技术选育刺糖多孢菌提高多杀菌素产量[J]. *上海农业学报*, 2015, 31(1): 5 – 10.
- [15] El - Gendy M M A, EL - Bondkly A M A. Genome shuffling of marine derived bacterium *Nocardia* sp. ALAA 2000 for improved ayamycin production[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2011, 99(4): 773 – 780.
- [16] Zheng P, Zhang K K, Yan Q, et al. Enhanced succinic acid production by *Actinobacillus succinogenes* after genome shuffling[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2013, 40(8): 831 – 840.
- [17] Chalopagom P, Charoenpanich J, Choowongkamon K. Genome shuffling enhances lipase production of thermophilic *Geobacillus* sp. [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 174(4): 1444 – 1454.
- [18] Hiroyuki H, Takashi Y, Yashuro Y. Genome shuffling of *Streptomyces* sp. U121 for improved production of hydroxycitric acid [J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2007, 73(6): 1387 – 1393.
- [19] 赵凯, 平文祥, 张丽娜, 等. 用 Genome shuffling 技术选育紫杉醇高产菌株[J]. *中国科学*, 2008, 38(3): 221 – 229.
- [20] Xu F, Jin H J, Li H M, et al. Genome shuffling of *Trichoderma viride* for enhanced cellulase production [J]. *Annals of Microbiology*, 2012, 62(2): 509 – 515.
- [21] 朱岩, 宋欣怡, 黄小池, 等. 基因组重排选育麦迪霉素高产菌株[J]. *沈阳药科大学学报*, 2011, 28(10): 830 – 834.
- [22] Wang H K, Zhang J, Wang X J, et al. Genome shuffling improves production of the low - temperature alkalophilic lipase by *Acinetobacter johnsonii* [J]. *Biotechnology Letters*, 2012, 34(1): 145 – 151.
- [23] Yu G H, Hu Y S, Hui M, et al. *Genome shuffling* of *Streptomyces roseosporus* for improving daptomycin production [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 172(5): 2661 – 2669.
- [24] Li W, Chen G G, Gu L L, et al. Genome shuffling of *Aspergillus niger* for improving transglycosylation activity [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 172(1): 50 – 61.
- [25] Wang Q L, Zhang D, Li Y D, et al. Genome shuffling of *Lactobacillus brevis* for enhanced production of thymidine phosphorylase [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 173(6): 1553 – 1563.
- [26] 夏燕春, 王超, 陈园, 等. 基于基因组重排技术的多杀菌素高产菌株选育[J]. *化工学报*, 2014, 65(9): 3577 – 3582.
- [27] Li H M, Xue F, Wang W J, et al. Genome shuffling of *Lactobacillus brevis* for enhanced production of thymidine phosphorylase [J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2015, 20(2): 333 – 340.
- [28] Wang H, Xue W, He Y M, et al. Improvement of the ability to produce spinosad in *Saccharopolyspora spinosa* through the acquisition of drug resistance and genome shuffling [J]. *Annals of Microbiology*, 2015, 65(2): 771 – 777.
- [29] Zhang G Q, Lin Y P, Qi X N, et al. Genome shuffling of the nonconventional yeast *Pichia anomala* for improved sugar alcohol production [J]. *Microbial Cell Factories*, 2015, 14(1): 1 – 10.
- [30] Patnaik R, Louie S, Gavrilovic V, et al. Genome shuffling of *Lactobacillus* for improved acid tolerance [J]. *Nature Biotechnology*, 2002, 20(7): 707 – 712.
- [31] Dai M H, Copley S D. Genome shuffling improves degradation of the anthropogenic pesticide pentachlorophenol by *Sphingobium chlorophenolicum* ATTC 39723 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(4): 2391 – 2397.

傅本重,邹路路,朱洁倩,等. 中国核桃生产现状与发展思路[J]. 江苏农业科学,2018,46(18):5-8.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.18.002

中国核桃生产现状与发展思路

傅本重^{1,2,3}, 邹路路¹, 朱洁倩¹, 魏 蜜², 杨新河³, 王立华^{1,2}, 李国元¹

(1. 湖北工程学院生命科学技术学院,湖北孝感 432000; 2. 特色果蔬质量安全控制湖北省重点实验室,湖北孝感 432000;
3. 湖北省植物功能成分利用工程技术研究中心,湖北孝感 432000)

摘要:核桃(*Juglans regia*)位居世界四大干果之首。近年来,我国核桃种植面积规模和总产量迅猛增加。2013年,我国核桃收获面积达425 000 hm²,产量达170万t,占世界总产的50%以上,产量和面积均居世界第一。现有国家林业局和中国经济林协会正式公布和命名的“中国核桃之乡”38个,国家级核桃示范基地53个,分布于16个省份。对我国核桃生产现状及在国际上的地位和发展趋势进行了分析,并结合“中国核桃之乡”的生产现状,提出了面临的问题与思考,为有关部门进一步了解核桃产业现状及问题提供参考。

关键词:核桃;种植面积;产量;中国核桃之乡;现状

中图分类号: S664.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)18-0005-04

核桃(*Juglans regia*)属于胡桃科核桃属,素有木本油料之王之称,位居世界四大干果之首,原产于波斯,其栽培历史超过7 000年,是人类最悠久的树生食物来源之一。核桃富含天然抗氧化剂和脂肪酸,对大脑健康发育,尤其是对预防和降低癌症和心脏病风险有显著作用。随着消费者健康意识的提高,对核桃的需求量增大,刺激了全球核桃种植面积增加。

近年来,从国家到各省(直辖市、自治区)都出台了相关的核桃产业发展战略和规划,我国核桃种植面积和产量迅猛增长。“十二五”期间,国家林业局重点发展油茶、核桃、板

栗、枣、柿子和仁用杏6个战略性干果产业。2014年6月,国家发展改革委、财政部和国家林业局联合印发了《全国优势特色经济林发展布局规划(2013—2020年)》,在全国优先规划和重点扶持以核桃、油茶、板栗等为主体的优势特色经济林产业。2015年1月,国务院办公厅印发《关于加快木本油料产业发展的意见》,突出加快以核桃、油茶为主体的木本油料产业发展,以大力增加健康优质食用植物油供给,切实维护国家粮油安全。可见核桃在我国当前林业经济中的重要地位。

在国家行动计划之下,核桃产业正面临前所未有的繁荣,尤其核桃主要种植地区将面临极好的发展机遇。在核桃行业受到如此重视和关注,各地都争相发展的同时,经过10多年的快速发展,更应该面对现实的问题,考虑今后发展的出路。本文对我国核桃种植、产量现状进行分析,提出相关思路,以期对核桃产业发展提供参考。

收稿日期:2018-01-20

基金项目:湖北省教育厅重点项目(编号:D20162701);湖北霖煜农业科技有限公司横向项目(编号:201808)。

作者简介:傅本重(1978—),男,湖北石首人,博士,副教授,主要从事核桃病害研究。E-mail:benzhongf@yahoo.com。

[32]王立梅,齐 斌. 基因组重组技术对L-乳酸产生菌耐热性的影响[J]. 食品科学,2008,29(10):395-398.

[33]Cao X H, Song Q, Wang C L, et al. Genome shuffling of *Hansenula anomala* to improve flavor formation of soy sauce[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(5):1857-1862.

[34]Zheng D Q, Wu X C, Wang P M, et al. Drug resistance marker-aided genome shuffling to improve acetic acid tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2011, 38(3):415-422.

[35]Zheng P, Liu M, Liu X D, et al. Genome shuffling improves thermotolerance and glutamic acid production of *Corynebacteria glutamicum*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(3):1035-1043.

[36]黄 俊,黎贞崇,吴仁智,等. 基因组重排技术选育乙醇高产菌株. 中国生物工程杂志,2014,34(7):56-62.

[37]Li S B, Qian Y, Liang Z W, et al. Enhanced butanol production from cassava with *Clostridium acetobutylicum* by genome shuffling[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 32(4):1-10.

[38]Zhao M, Dai C C, Guan X Y, et al. Genome shuffling amplifies the carbon source spectrum and improves arachidonic acid production in *Diasporangium* sp. [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2009, 45(6-7):419-425.

[39]Kang J X, Chen X J, Chen W R, et al. Enhanced production of pullulan in *Aureobasidium pullulans* by a new process of genome shuffling[J]. Process Biochemistry, 2011, 46(3):792-795.

[40]Zhou Y P, Ren X D, Wang L, et al. Enhancement of ϵ -polylysine production in ϵ -polylysine-tolerant *Streptomyces* sp. by genome shuffling [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, 38(9):1705-1713.

[41]Wang M Z, Liu S S, Li Y Y, et al. Protoplast mutation and genome shuffling induce the endophytic fungus *Tubercularia* sp. TF5 to produce new compounds[J]. Current Microbiology, 2010, 61(4):254-260.

[42]Cao X H, Hou L H, Lu M F, et al. Genome shuffling of *Zygosaccharomyces rouxii* to accelerate and enhance the flavour formation of soy sauce [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(2):281-285.