

除草剂残留生物检测研究进展

周挺¹, 肖顺², 陈涛³, 林天然⁴, 林伟⁵, 黎炳水⁴, 李春英¹, 顾钢^{1*}

(1. 中国烟草总公司福建省公司, 福建福州 350003; 2. 福建农林大学植物保护学院, 福建福州 350002; 3. 福建省烟草公司三明市公司, 福建三明 365000; 4. 福建省烟草公司龙岩市公司, 福建龙岩 364000; 5. 福建省烟草公司南平市公司, 福建南平 353000)

摘要 土壤中除草剂残留对环境有负面影响, 相较于复杂的化学检测方法, 生物检测法可以直观快速地监测除草剂残留, 预警潜在的风险。综述了除草剂残留生物检测技术的研究进展, 分析存在的问题, 展望今后的发展方向, 为除草剂残留快速检测研究提供思路。**关键词** 除草剂; 生物检测; 残留; 风险中图分类号 S481⁺.8 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)11-0011-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.11.004



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

The Research Progress on Biological Detection of Herbicide Residues**ZHOU Ting¹, XIAO Shun², CHEN Tao³ et al** (1. Fujian Provincial Tobacco Company, Fuzhou, Fujian 350003; 2. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002; 3. Fujian Sanming Tobacco Company, Sanming, Fujian 365000)**Abstract** Herbicide residues in soil have a negative impact on the environment. Compared with complex chemical detection methods, bioassay can directly monitor herbicide residues and early warn potential risks. This paper reviews the research progress of herbicide residue bioassay technologies, and makes prospects for the future development direction, to provide ideas for rapid detection of herbicide residues.**Key words** Herbicide; Biological detection; Residue; Risk

农业生产中使用的除草剂大部分直接或间接进入农田土壤中^[1], 残留在土壤不同深度空间^[2], 除草剂在土壤中的残留既涉及除草剂的效果与持效期, 又涉及对轮作的后茬作物的安全性^[3]。同时, 土壤中的除草剂通过淋溶、流域排水、降雨等作用, 直接或间接地污染地表水和地下水, 部分除草剂还可迁移至农作物, 最终暴露于人体^[4-6]。因此, 为了改善环境、保障人类健康, 检测土壤中除草剂的残留具有重要的现实意义。化学检测方法虽可达到更小的检测量和更高的灵敏度, 但操作复杂且费时, 作为对于检测方法的补充, 生物测定法已被证实可以用于检测低量的生物可利用除草剂残留^[7]。研究表明, 土壤生物活性可作为监测土壤是否被农药污染的指标, 通过监测生物特征变化, 可快速评价土壤中农药残留潜在的毒性^[8]。有些指示生物的检测灵敏度甚至好于仪器检测法^[9]。该研究综述了除草剂残留对不同指示生物的影响, 为除草剂残留快速检测研究提供一定的思路。

1 指示植物监测除草剂残留

除草剂残留对植物根茎生长存在明显的抑制作用^[10]。20世纪80年代, Hsiao等^[11]报道采用玉米检测土壤中绿磺隆残留的方法, 建立了玉米主根长度与氯磺隆浓度之间的线性回归模型。国内研究者对该方法加以改进, 建立了曲线回归模型, 来描述氯磺隆浓度与玉米主根长或抑制率之间的关系^[12-13]。陆强^[14]采用土壤添加法测定了绿磺隆、甲磺隆和胺苯磺隆残留对玉米根长的抑制率, 并通过线性关系计算得出3种除草剂在不同土壤中的检测下限。基于玉米作为指示植物进行除草剂生测的研究较多, 2006年农业部制定了除

草剂室内生物测定试验准则(玉米根长法)^[15], 统一了检测手段和技术标准。赵长山等^[16]对玉米根长法除草剂生物测定的试验装置进行了改进, 降低了装置问题导致出现误差的可能性。高世杰等^[17]还利用氟磺胺草醚对玉米株高的抑制作用, 建立了氟磺胺草醚玉米生物测定方法——玉米株高法。

其他指示植物方面, 刘伊玲等^[18]研究表明, 豌豆、黄瓜的幼根是测定甲草胺在土壤中残留量的敏感试材, 豌豆生测法可以较准确的测定甲草胺在土壤中的残留动态。De Barreda等^[19]利用番茄幼苗检测水体中的苄嘧磺隆和二氯喹啉酸, 检测限分别可达到1和100 μg/L。李琤等^[20]采用油菜根法, 可在72 h内获得油菜根长对土壤中甲磺隆和绿磺隆的标准曲线, 检测其在土壤中的残留量和降解规律。Ortega等^[7]采用一年生开花植物独行菜(*Lepidium sativum* L. var. *cresson*)作为指示植物, 通过计算其在土壤中不同时间的死亡率和到达花期时的存活率来检测土壤中三嗪类除草剂的残留。刘亚光等^[21]研究表明, 小麦株高和玉米叶绿素可作为除草剂广灭灵在土壤中残留的生物测定指标。Szmigielski等^[22]建立了芥菜根长法, 检测土壤中的氟唑磺隆残留, 检测过程仅需3 d, 使用该方法对作物产量损失进行预测, 准确性高于化学检测。Ranft等^[23]采用芥菜作为指示植物, 测定土壤中的绿草定(triclopyr)残留, 检测结果与化学方法十分接近。徐子晶等^[24]研究发现, 当土壤中二氯喹啉酸浓度在0.7~8.0 mg/kg时, 花生株高与浓度存在一定的线性关系。冯莉等^[25]采用龙葵盆栽法, 检测稻田中二氯喹啉酸残留量, 预测后茬作物药害的发生, 若出苗推迟2~3 d, 株高抑制率超过50%, 叶片畸形率超过70%, 即可判定轮作马铃薯会发生药害。Lourenço等^[26]研究表明, 小葵子(*Guizotia abyssinica* Cass.)对甲磺草胺(sulfentrazone)较敏感, 可作为良好的甲磺草胺指示植物, 用于评估土壤中甲磺草胺的残留。周星洋等^[27]以叶长、叶宽的抑制率为指标, 采用盆栽烤烟(K326)法

基金项目 中国烟草总公司福建省公司科技项目(2021350000240009)。
作者简介 周挺(1984—), 男, 陕西安康人, 农艺师, 硕士, 从事烟草病虫害综合防治研究。*通信作者, 高级农艺师, 硕士, 从事烟草病虫害综合防治研究。
收稿日期 2021-08-23

测定二氯喹啉酸的残留,与高效液相色谱法的结果一致,可用于预警种植烤烟的风险。Khalil等^[28]用黑麦草(*Lolium multiflora* Lam.)、黄瓜(*Cucumis sativus* L.)和甜菜(*Beta vulgaris* L.),采用平皿法检测土壤中苜蓿草丹(prosulfocarb)、吡嘧草唑(pyroxasulfone)和氟乐灵(trifluralin)的残留,建立了以茎长为指标的检测曲线,与化学法的结果显著相关。

2 指示微生物监测除草剂残留

土壤微生物是土壤中最敏感的生物标记之一,土壤环境微小的变动都会引起微生物多样性变化,尤其是土壤受化学品污染后,土壤微生物群落会发生显著的变化。除草剂对土壤微生物丰富度影响较小,但显著影响微生物群落结构^[29]。邓晓等^[30]研究了草甘膦对土壤微生物的影响,在供试浓度范围内,草甘膦对细菌、放线菌和真菌都有抑制作用,存在明显的剂量效应,放线菌和真菌较细菌对草甘膦敏感。江雪飞等^[31]利用活菌计数法检测氯磺隆对土壤微生物群落结构的影响,结果表明土壤微生物对氯磺隆的敏感程度是放线菌>细菌>真菌。宿翠翠等^[32]采用富集培养和平板稀释法研究了氟乐灵、百草枯、溴苯腈、精喹禾灵和氟磺胺草醚对土壤细菌、放线菌群落的影响,其中氟乐灵、百草枯、溴苯腈和精喹禾灵对细菌、放线菌有一定抑制作用,且存在剂量效应,氟磺胺草醚对细菌、放线菌则有轻微的促进作用。根据除草剂对土壤微生物不同的影响特性,可将土壤微生物的变化作为土壤生态系统变化的预警指标。

俞慎等^[33]研究表明,土壤微生物生物量能灵敏地检测出土壤被多效唑和杀虫脒污染的程度,这些微生物指标的变化可以用于建立农用有机物质对土壤污染状况的分级评价系统。徐建民等^[34]将氯磺隆、甲磺隆和苄嘧磺隆等按照1 mg/kg的用量加入土壤,在施用后最初10 d可显著降低土壤微生物生物量,此后随着时间的延续,抑制效应逐步减小。汪海珍等^[35]研究发现,土壤微生物群落尤其是放线菌,对甲磺隆结合态残留物反应比较敏感,甲磺隆对不同土壤中的放线菌有强烈抑制作用,最高可达100%,土壤放线菌可作为评价甲磺隆残留污染土壤生态环境效应的指标。姚斌等^[36]采用盆栽试验方法研究了阿特拉津除草剂对土壤微生物生态特征的影响,结果表明,阿特拉津处理的前30 d,土壤微生物生物量碳表现出抑制-恢复-下降-平缓的发展过程,该变化所反映出的土壤微生物生态特征指标,可作为除草剂污染土壤环境质量变异的参考指标。郭兴华等^[37]采用乙草胺作为土壤污染因子,研究其对土壤微生物及土壤微生物量碳的影响,结果发现,乙草胺对真菌的抑制不明显,在短时间抑制过程中,细菌、放线菌数量以及微生物量碳与乙草胺浓度的对数之间有很好的剂量效应关系,土壤中细菌、放线菌数量以及微生物量碳可作为短期污染条件下土壤中乙草胺污染状况的指示指标。

3 指示藻类监测除草剂残留

藻类个体小、繁殖快、易培养,对不同的除草剂存在明显的响应差异,除草剂对藻类的生物毒性能敏感的反映在藻类的生长上^[38],可用于环境安全的评价,国内外都有藻类生物

测试方法标准^[39-40]。

邓海华等^[41]以柯氏绿藻为试材建立了阿特拉津生物测定方法,灵敏度高达0.01 mg/L,测定过程只需1~2 d,周期短、准确性高。阮祚禧等^[42]报道较低浓度的草甘膦即可对食用藻类葛仙米(*N. sphaeroides*)的生长有较强抑制作用,高浓度处理时葛仙米出现负生长,草甘膦浓度达0.6 mmol/L时藻体变白无光合活性。Novis等^[43]采用ToxY-PAM(pulse-amplitude-modulation)方法,测定了小球藻(*Chlorella* sp.)、新氯藻(*Neochloris* sp.)和*Choricystis minor* 3种藻类对草甘膦的敏感性,结果显示小球藻(*Chlorella* sp.)最为敏感,可用于水质的监测,但敏感程度仍与欧盟的要求(0.1 μg/L)有差距。叶丹等^[44]报道了在阿特拉津、敌草隆和西玛津胁迫下,斜生栅藻、蛋白核小球藻和羊角月牙藻的响应,其中羊角月牙藻对除草剂敏感,可作为监测3种除草剂的指示生物。陈小娟等^[45]利用藻类在线水体检测系统(A-TOX)检测了阿特拉津对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)、莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)和斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)光合作用的抑制作用,结果表明低浓度阿特拉津在短时内对3种绿藻光合作用的抑制效应随着阿特拉津浓度的增加而显著上升,其中莱茵衣藻对阿特拉津最敏感,可以作为在线水体监测系统的测试藻。赵德华等^[46]研究了莠去津、敌稗、敌草隆、灭草松及其混合剂对蛋白核小球藻、铜绿微囊藻、斜生栅藻光合特性的影响,无论除草剂单独或混合胁迫,都能显著降低藻细胞类囊体膜中光系统II的最大光合效率和实际光合效率,同时还可以使叶绿素荧光强度下降。郑凯等^[47]应用新型大面积调制叶绿素荧光成像系统,以蛋白核小球藻作为指示生物,以光合作用抑制剂敌草隆和莠去津为测试物质,建立了微孔板式藻毒性检测方法,当藻细胞暴露浓度在 $3.45 \times 10^6 \sim 5.28 \times 10^6$ cell/mL,暴露时间为2 h,毒性检测最灵敏,并成功应用于石油废水的检测。Thomas等^[48]应用敌草隆、西玛津等7种光合作用抑制型除草剂测定隐藻(*Rhodomonas salina*)的敏感性,隐藻光合作用降低和生长量的降低幅度,在一定范围内与除草剂浓度线性相关,可以用于监测热带海洋生态系统中除草剂的污染。总之,藻类对类型或结构不同的除草剂存在敏感性的差异^[49],可以选择合适的敏感藻监测或指导除草剂的使用。

4 讨论与展望

我国是农业大国,农业生产使用的除草剂种类繁多,除草剂残留造成作物药害、环境污染等问题的风险也很大。化学方法虽然准确率和精度都很高,但是大多依赖于先进的仪器设备,同时在检测前必须对样品进行复杂的前处理,检测人员需要有较强的专业背景和熟练的操作技术,这就限制了其在一些基层农业部门或者广大农村地区的应用推广。农药残留生物测定方法是利用生物的生理生化反应来判断农药残留的活性以及农药污染的情况,在测定时无需前处理或前处理比较简单、速度快、直观^[21],尤其是指示植物法,操作技术也相对简单,适合在基层地区应用和推广。

但生物测定法在实际应用中也存在一定的局限性。如1

种植物往往只针对 1 种除草剂,如果同一田块使用了多种除草剂或复配剂,指示植物法就无法测出各种除草剂的残留量^[22]。不同种类的微生物对不同的除草剂所表现出的响应不同,可能表现出抑制或刺激作用,该作用持续的时间也较短暂^[50],且微生物群体变化和变化过程十分复杂,测定结果可能出现不确定性。除此之外,有些除草剂如莠去津在不同时段对细菌、放线菌和真菌的作用会发生显著变化,且整个过程时间较长^[51],使其评价范围存在局限性。随着农业技术的发展,许多新型除草剂陆续涌现,如纳米农药的使用^[52-54],使除草剂在环境中的迁移转化过程更趋复杂,改变了除草剂原有的毒性效应,其对微生物、藻类等的影响也可能随之改变。

为了实现除草剂残留的快速检测,为农业生产提供最直接的参考,还需进一步开展检测技术的研究与应用。①除草剂快速检测指示生物体系的建立。采用不同的鉴别寄主可确定稻瘟菌、青枯菌等病原菌的生理小种^[55-56],同理,可通过筛选对不同除草剂敏感性不同的植物、微生物、藻类等,建立同类型除草剂指示生物体系,通过观测指示生物在除草剂胁迫下的不同响应类型,既可确定除草剂种类又可以快速检测除草剂残留浓度,快速评估除草剂药害风险,适用于基层。②除草剂剂型的改变可能影响其在环境中的迁移转化规律以及对指示生物的影响等,因此需开展同种除草剂不同剂型对指示生物影响的研究,为建立新型除草剂生物监测技术提供依据。③加快除草剂快速检测生物传感器的研究与应用。生物传感器是将生物识别元件和信号转换元件紧密结合,从而检测目标化合物的分析装置^[57]。在农药残留的检测中较常用的有酶传感器和基于免疫原理的传感器^[58],但此类检测方法与化学方法相比在检测限、灵敏度、重复性方面都存在一定的不足,较难达到定量检测的目的,因此有必要开展农残快速定量检测生物传感器的研究与应用。

参考文献

- [1] 杨再磊. 新疆棉田土壤中三种农药残留量测定方法建立及分布特征研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2014.
- [2] 张可鑫,张金艳,王亚飞. 崂山地区大豆田除草剂残留的空间分布[J]. 农药,2020,59(1):56-59.
- [3] 苏少泉. 长残留除草剂对后茬作物安全性问题[J]. 农药,1998,37(12):4-7.
- [4] MEYER M T, THURMAN E M. Herbicide metabolites in surface water and groundwater[M]. Washington DC: American Chemical Society, 1996.
- [5] 王以燕,许建宁,胡洁. 美国 EPA 对农药致癌可能性的评估[J]. 农药,2009,48(6):462-466.
- [6] 孙惠青,邱军,张继光,等. 土壤中 6 种磺酰脲类除草剂的消解及暴露风险评估[J]. 农药,2017,56(1):52-55.
- [7] ORTEGA M, ALONSO-PRADOS J L, VILLARROYA M, et al. Detection of phytotoxic soil residues of hexazinone and simazine by a biological test using *Lepidium sativum* L. var. cresson [J]. Weed technology, 2004, 18(3): 505-508.
- [8] WOLEJKO E, JABŁOŃSKA-TRYPUĆ A, WYDRO U, et al. Soil biological activity as an indicator of soil pollution with pesticides-A review [J]. Applied soil ecology, 2020, 147: 1-13.
- [9] DE OLIVEIRA M, PIRES F, FERREÇO M, et al. The validation of an analytical method for sulfentrazone residue determination in soil using liquid chromatography and a comparison of chromatographic sensitivity to millet as a bioindicator species [J]. Molecules, 2014, 19(8): 10982-10997.
- [10] SUN L L, XU H L, HAO H D, et al. Effects of bensulfuron-methyl residue on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in leaves of cucumber seedlings [J]. PLoS One, 2019, 14(4): 1-11.
- [11] HSIAO A I, SMITH A E. A root bioassay procedure for the determination of chlorsulfuron, diclofop acid and sethoxydim residues in soils [J]. Weed research, 1983, 23(4): 231-236.
- [12] 蔡立. 土壤中绿磺隆残留量生物测定方法 [J]. 农村生态环境, 1995(1): 22-25.
- [13] 姚东瑞,宋小玲,陈杰. 绿磺隆残留的生测方法研究 [J]. 植物保护学报, 1998, 25(2): 161-165.
- [14] 陆强. 土壤中绿磺隆等三种磺酰脲除草剂残留量的生物测定及对水稻敏感性研究 [D]. 杭州:浙江大学,2002.
- [15] 中华人民共和国农业部. 农药室内生物测定试验准则 除草剂 第 2 部分,活性测定试验 玉米根长法; NY/T 1155. 2—2006 [S]. 北京:中国标准出版社,2006.
- [16] 赵长山,何付丽,刘亚光,等. 玉米根长法除草剂生物测定实验装置的改进 [J]. 实验室科学, 2015, 18(5): 50-52.
- [17] 高世杰,韩玉军,蒋凌霄,等. 氟磺胺草醚的生物测定方法研究 [J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(7): 45-49.
- [18] 刘伊玲,刘文芝,王作金. 生测法测定甲草胺在土壤中的残留量 [J]. 植物保护学报, 1989, 16(1): 67-71.
- [19] DE BARREDA D G, LORENZO E, CARBONELL E A, et al. Use of tomato (*Lycopersicon esculentum*) seedlings to detect bensulfuron and quinclorac residues in water [J]. Weed technology, 1993, 7(2): 376-381.
- [20] 李净,黄循一,戴育明. 生物法测定土壤中甲磺隆和绿磺隆残留量 [J]. 上海环境科学, 1995, 14(11): 33-35.
- [21] 刘亚光,杨谦. 长残留除草剂广灭灵的生物测定方法 [J]. 东北农业大学学报, 2005, 36(4): 463-466.
- [22] SZMIGIELSKI A M, SCHOENAU J J, IRVINE A, et al. Evaluating a mustard root-length bioassay for predicting crop injury from soil residual flucarbazone [J]. Communications in soil science and plant analysis, 2008, 39(3/4): 413-420.
- [23] RANFT R D, SEEFELDT S S, ZHANG M, et al. Development of a soil bioassay for trietopyr residues and comparison with a laboratory extraction [J]. Weed technology, 2010, 24(4): 538-543.
- [24] 徐子晶,逯州,向殿福. 二氯喹啉酸药害的生物测定 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(23): 12762-12763, 12772.
- [25] 冯莉,田兴山,岳茂峰,等. 一种土壤残留二氯喹啉酸的简便快速检测方法: CN201310048897.0 [P]. 2014-10-29.
- [26] LOURENÇO R C, DE CARVALHO S J P. Bioindicator demonstrates high persistence of sulfentrazone in dry soil [J]. Pesquisa agropecuária tropical, 2015, 45(3): 326-332.
- [27] 周星洋,钟秋瓊,张国宾,等. 土壤中除草剂残留二氯喹啉酸两种测定方法的相关性 [J]. 广东农业科学, 2015, 42(2): 72-76.
- [28] KHALIL Y, SIDDIQUE K H M, WARD P, et al. A bioassay for prosulfocarb, pyrooxasulfone and trifluralin detection and quantification in soil and crop residues [J]. Crop and pasture science, 2018, 69(6): 606-616.
- [29] CHEN Q L, YANG B S, WANG H, et al. Soil microbial community toxic response to atrazine and its residues under atrazine and lead contamination [J]. Environmental science and pollution research, 2015, 22(2): 996-1007.
- [30] 邓晓,李雅琦. 草甘膦对土壤微生物影响的研究 [J]. 农药, 2005, 44(2): 59-62.
- [31] 江雪飞,喻子牛,张翅,等. 脂肪酸甲酯和活菌计数法检测氯磺隆对土壤微生物群落结构的影响 [J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(4): 465-468.
- [32] 宿翠翠,李琦,郭青云. 除草剂对马铃薯土壤中细菌、放线菌群落的影响 [J]. 河南农业科学, 2014, 43(12): 96-101.
- [33] 俞慎,李勇,王俊华,等. 土壤微生物生物量作为红壤质量生物指标的探讨 [J]. 土壤学报, 1999, 36(3): 413-422.
- [34] 徐建民,黄昌勇,安曼,等. 磺酰脲类除草剂对土壤质量生物学指标的影响 [J]. 中国环境科学, 2000, 20(6): 491-494.
- [35] 汪海珍,徐建民,谢正苗. 甲磺隆结合态残留物对土壤微生物的影响 [J]. 农药学报, 2003, 5(2): 69-78.
- [36] 姚斌,徐建民,尚鹤,等. 阿特拉津除草剂对土壤微生物生态特征的影响 [J]. 水土保持学报, 2005, 19(3): 46-49.
- [37] 郭兴华,乔玉辉,赵晶,等. 土壤微生物对除草剂乙草胺污染的响应和指示 [J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(5): 960-963.
- [38] 岳霞丽,张新萍,胡先文,等. 苄嘧磺隆对蛋白核小球藻的生长效应研究 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(9): 1823-1827.
- [39] 中华人民共和国农业部. 农药室内生物测定试验准则 除草剂 第 10 部分: 光合抑制型除草剂活性测定试验 小球藻法; NY/T 1155. 10—2011 [S]. 北京:中国标准出版社,2011.

- Cold spring harbor perspectives in biology, 2011, 3(11):1-25.
- [9] PREISSLER S, RON D. Early events in the endoplasmic reticulum unfolded protein response[J]. Cold spring harbor perspectives in biology, 2019, 11(4):1-18.
- [10] CEREGHINO J L, CREGG J M. Heterologous protein expression in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris* [J]. FEMS microbiology reviews, 2000, 24(1):45-66.
- [11] TANNOUS A, PISONI G B, HEBERT D N, et al. N-linked sugar-regulated protein folding and quality control in the ER[J]. Seminars in cell & developmental biology, 2015, 41:79-89.
- [12] GE F, ZHU L B, AANG A N, et al. Recent advances in enhanced enzyme activity, thermostability and secretion by N-glycosylation regulation in yeast[J]. Biotechnology letters, 2018, 40(5):847-854.
- [13] ROTH J, ZUBER C, PARK S, et al. Protein N-glycosylation, protein folding, and protein quality control[J]. Molecules and cells, 2010, 30(6):497-506.
- [14] PUXBAUM V, MATTANOVICH D, GASSER, B. Quo vadis? The challenges of recombinant protein folding and secretion in *Pichia pastoris* [J]. Applied microbiology & biotechnology, 2015, 99(7):2925-2938.
- [15] KOSTOVA Z, WOLF D H. For whom the bell tolls: Protein quality control of the endoplasmic reticulum and the ubiquitin-proteasome connection [J]. EMBO journal, 2003, 22(10):2309-2317.
- [16] HAURI H P, APPENZELLER C, KUHN F, et al. Lectins and traffic in the secretory pathway[J]. FEBS letters, 2000, 476(1/2):32-37.
- [17] DE POURCQ K, DE SCHUTTER K, CALLEWAERT N. Engineering of glycosylation in yeast and other fungi: Current state and perspectives[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2010, 87(5):1617-1631.
- [18] KIELISZEWSKI M J. The latest hype on Hyp-O-glycosylation codes[J]. Phytochemistry, 2001, 57(3):319-323.
- [19] BRETTHAUER R K, CASTELLINO F J. Glycosylation of *Pichia pastoris*-derived proteins [J]. Applied biochemistry and biotechnology, 1999, 30(3):193-200.
- [20] SKROPETA D. The effect of individual N-glycans on enzyme activity[J]. Bioorganic & medicinal chemistry, 2009, 17(7):2645-2653.
- [21] GEMMILL T R, TRIMBLE R B. Overview of N- and O-linked oligosaccharide structures found in various yeast species[J]. Biochimica et biophysica acta, 1999, 1426(2):227-237.
- [22] IMPERIALI B, O'CONNOR S E. Effect of N-linked glycosylation on glycopeptide and glycoprotein structure[J]. Current opinion in chemical biology, 1999, 3(6):643-649.
- [23] LEDERKREMER G Z. Glycoprotein folding, quality control and ER-associated degradation[J]. Current opinion in structural biology, 2009, 19(5):515-523.
- [24] BRAAKMAN I, HEBERT D N. Protein folding in the endoplasmic reticulum[J]. Cold spring harbor perspectives in biology, 2013, 5(5):1-17.
- [25] HAN M H, WANG X F, DING H Y, et al. The role of N-glycosylation sites in the activity, stability, and expression of the recombinant elastase expressed by *Pichia pastoris* [J]. Enzyme and microbial technology, 2014, 54:32-37.
- [26] YANG M, YU X W, ZHENG H Y, et al. Role of N-linked glycosylation in the secretion and enzymatic properties of *Rhizopus chinensis* lipase expressed in *Pichia pastoris* [J]. Microbial cell factories, 2015, 14(1):1-14.
- [27] ITO K, ISHIMARU T, KIMURA F, et al. Importance of N-glycosylation positioning for secretion and folding of ovalbumin[J]. Biochemistry and biophysical research communications, 2007, 361(3):725-731.
- [28] SAGT C M, KLEIZEN B, VERWAAL R, et al. Introduction of an N-glycosylation site increases secretion of heterologous proteins in yeasts[J]. Applied and environmental microbiology, 2000, 66(11):4940-4944.
- [29] WEI W, CHEN L, ZOU G, et al. N-glycosylation affects the proper folding, enzymatic characteristics and production of a fungal β -glucosidase [J]. Biotechnology and bioengineering, 2013, 110(12):3075-3084.
- [30] WANG N, WANG K Y, XU F F, et al. The effect of N-glycosylation on the expression of the tetanus toxin fragment C in *Pichia pastoris* [J]. Protein expression and purification, 2020, 166:1-7.
- [31] HAN M H, WANG W X, JIANG G C, et al. Enhanced expression of recombinant elastase in *Pichia pastoris* through addition of N-glycosylation sites to the propeptide [J]. Biotechnology letters, 2014, 36(12):2467-2471.
- [32] LIU Y, XIE W P, YU H W. Enhanced activity of *Rhizomucor miehei* lipase by deglycosylation of its propeptide in *Pichia pastoris* [J]. Current microbiology, 2014, 68(2):186-191.
- [33] HOSHIDA H, FUJITA T, CHA-AIM K, et al. N-glycosylation deficiency enhanced heterologous production of a *Bacillus licheniformis* thermostable α -amylase in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Applied microbiology and biotechnology, 2013, 97(12):5473-5482.
- [34] HAN M H, WANG X F, YAN G L, et al. Modification of recombinant elastase expressed in *Pichia pastoris* by introduction of N-glycosylation sites [J]. Journal of biotechnology, 2014, 171:3-7.
- [35] WANG P, ZHANG J, SUN Z, et al. Glycosylation of prokinase produced by *Pichia pastoris* impairs enzymatic activity but not secretion [J]. Protein expression and purification, 2000, 20(2):179-185.
- [36] HAN M H, WANG W X, WANG X F, et al. Enhanced expression of recombinant elastase in *Pichia pastoris* through the substitution of Thr for Ser in Asn-Xaa-Ser sequons [J]. Applied biochemistry and biotechnology, 2015, 175(1):428-435.
- [37] AGUILA S, MARTÍNEZ-MARTÍNEZ I, DICHARA G, et al. Increased N-glycosylation efficiency by generation of an aromatic sequon on N135 of antithrombin [J]. PLoS One, 2014, 9(12):1-14.
- [38] MURRAY A N, CHEN W T, ANTONOPOULOS A, et al. Enhanced aromatic sequons increase oligosaccharyltransferase glycosylation efficiency and glycan homogeneity [J]. Chemistry & biology, 2015, 22(8):1052-1062.

(上接第 13 页)

- [40] 耿青君, 崔建升, 段莉丽, 等. 藻叶绿素荧光检测除草剂生物毒性进展 [J]. 煤炭与化工, 2019, 42(8):143-145.
- [41] 邓海华, 曾练强, 邝乐生. 绿藻生物测定法定量测定阿特拉津的研究 [J]. 甘蔗糖业, 2000(5):19-25.
- [42] 阮祚禧, BROWN M T. 草甘膦对可食用蓝藻葛仙米生长和生理的影响 [J]. 水生生物学报, 2008, 32(4):462-468.
- [43] NOVIS P M, HALLE C, WILSON B, et al. Identification and characterization of freshwater algae from a pollution gradient using *rbcL* sequencing and toxicity testing [J]. Archives of environmental contamination and toxicology, 2009, 57(3):504-514.
- [44] 叶丹, 陈洁, 袁琳, 等. 除草剂对 3 种绿藻的毒性测试研究 [J]. 人民长江, 2014, 45(18):82-86.
- [45] 陈小娟, 潘晓洁, 邹阳, 等. 阿特拉津的在线监测预警方法初探 [J]. 三峡生态环境监测, 2016, 1(3):1-7.
- [46] 赵德华, 崔建升, 段莉丽, 等. 藻类叶绿素荧光对除草剂生物毒性响应特性的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(9):2820-2877.
- [47] 郑凯, 马晓妍, 郝丽伟, 等. 基于叶绿素荧光成像技术的藻毒性检测法的建立及在环境监测中的应用 [J]. 环境科学学报, 2019, 39(3):768-773.
- [48] THOMAS M C, FLORES F, KASERZON S, et al. Toxicity of ten herbicides to the tropical marine microalgae *Rhodomonas salina* [J]. Scientific reports, 2020, 10(1):1-16.
- [49] SINGH S, DATTA P. Screening and selection of most potent diazotrophic cyanobacterial isolate exhibiting natural tolerance to rice field herbicides for exploitation as biofertilizer [J]. Journal of basic microbiology, 2006, 46(3):219-225.
- [50] ZAIN M, MOHAMAD R B, SIJAM K, et al. Growth-inhibitory effects of herbicides on soil bacterial population in oil palm plantation [J]. Journal of pure and applied microbiology, 2013, 7(3):1799-1808.
- [51] 孙淑清, 刘限, 姚远, 等. 莠去津和烟嘧磺隆对玉米田土壤微生物的影响 [J]. 农药, 2014, 53(4):276-279.
- [52] 王建良. 一种纳米除草剂及其制备方法: CN201410634900. 1 [P]. 2016-05-25.
- [53] 李世奎, 李琳, 赵娜娜, 等. 两性氟乐灵/羧甲基壳聚糖载药纳米粒子的制备及缓释性能 [J]. 农药, 2018, 57(8):564-567.
- [54] GAO C, HUANG Q X, LAN Q P, et al. A user-friendly herbicide derived from photo-responsive supramolecular vesicles [J]. Nature communications, 2018, 9:1-13.
- [55] 肖丹凤, 张佩胜, 王玲, 等. 中国稻瘟病菌种群分布及优势生理小种的研究进展 [J]. 中国水稻科学, 2013, 27(3):312-320.
- [56] 邹阳, 肖崇刚, 马冠华, 等. 青枯菌生理分化及致病型测定研究进展 [J]. 中国植保导刊, 2016, 36(7):21-28.
- [57] GUILBAULT G G, PRAVDA M, KREUZER M, et al. Biosensors-42 years and counting [J]. Analytical letters, 2004, 37(8):1481-1496.
- [58] 蒋雪松, 王剑平, 应义斌, 等. 用于食品安全检测的生物传感器的研究进展 [J]. 农业工程学报, 2007, 23(5):272-277.