

环境微生物 研究方法与应用

王曙光 主编

林先贵 刁晓君 副主编



化学工业出版社

环境微生物 研究方法与应用

X172
WSG

王曙光 主编

林先贵 刁晓君 副主编



化学工业出版社

· 北京 ·

本书概述了环境微生物的最新研究方法、在环境污染治理中的应用及环境微生物在工农业生产过程中节能减排的先锋作用。内容主要包括三大部分：第一部分为环境微生物基础知识（一至三章），介绍了环境微生物资源、环境微生物生态学、环境微生物营养代谢及环境微生物在地球化学循环中的作用等知识；第二部分是环境微生物分析方法（四至五章），主要介绍了环境微生物分析方法在环境微生物研究中的重要性、传统环境微生物分析方法的特点及不足，以及现代环境微生物分析方法的原理、操作步骤、注意事项、常见问题分析和具体应用等；第三部分是环境微生物在环境污染治理中的应用（六至八章），这部分内容既有环境微生物在传统领域应用中的一些最新研究进展，也有环境微生物在资源与能源替代和开采方面的探索，较为全面地介绍了环境微生物在经济可持续发展、环境安全与保护等方面的作用。

本书可作为高等院校和科研院所环境科学、微生物学、土壤学、生态学等专业高年级本科生、研究生学习和实验用指导书，也可以作为相关专业的教学和培训参考书。

图书在版编目（CIP）数据

环境微生物研究方法与应用/王曙光主编. —北京：化学工业出版社，2008.7

ISBN 978-7-122-03274-4

I. 环… II. 王… III. ①环境科学：微生物学-研究方法②环境科学：微生物学-应用 IV. X172

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2008）第 098027 号

责任编辑：唐旭华 叶晶磊 宋湘玲
责任校对：徐贞珍

装帧设计：关 飞

出版发行：化学工业出版社（北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011）

印 刷：大厂聚鑫印刷有限责任公司

装 订：三河市延风印装厂

787mm×1092mm 1/16 印张 17 $\frac{3}{4}$ 字数 454 千字 2008 年 8 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询：010-64518888（传真：010-64519686） 售后服务：010-64518899

网 址：<http://www.cip.com.cn>

凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

定 价：38.00 元

版权所有 违者必究

本书编写人员名单

主 编 王曙光

副 主 编 林先贵 刁晓君

编写人员 (以姓氏笔画为序)

刁晓君 王曙光 刘研萍 林先贵 林爱军 金樑

前言

21 世纪被认为是生物技术的世纪, 这预示着生物技术将在未来人类生产和生活中发挥更大的作用。作为生物大家庭中的重要成员, 环境微生物在地球上无处不在, 从高山到峡谷, 从陆地到海洋, 从高温到低温, 从好氧到厌氧, 各种生境中都有它们的活动踪迹, 并在维持生态系统平衡、促进物质循环、净化环境等方面起了积极的作用。进入工业化革命时代以来, 人类生存环境质量不断下降, 已威胁到人类自身的生存发展。环境保护和环境污染治理成为全球共同关心的主题, 而环境微生物被认为是保护生态环境和净化环境污染最具潜力和最有效率的工具之一, 因此, 加大对环境微生物及其应用研究具有非同寻常的意义。

目前, 人类对微生物世界的认识和应用非常有限, 已认识的种类不到自然界总微生物种类的 1%, 即使对于最容易培养、研究最多的细菌, 认识也不到总细菌种类的 5%。造成这种状况的主要原因是微生物研究方法的局限性, 因为自然界中的大部分微生物是不可培养的, 而传统的微生物研究方法基本上都建立在培养的基础上。因此, 要想更好地开发利用环境微生物资源, 必须突破传统微生物研究思路和分析方法的局限。所以, 有关环境微生物研究方法的探索一直是现代环境微生物学的重要内容。

如今, 随着分子生物学、计算机科学、分析化学等学科的快速发展, 环境微生物分析方法的探索也取得了很大进步, 一些被称为现代环境微生物分析方法的技术逐渐得到了大家的认可, 如以多聚酶链式反应 (PCR) 为主的体外克隆技术、以磷脂脂肪酸 (PLFA) 为指示物的生物标记技术、以底物碳代谢特征为基础的 BIOLOG 技术, 以及特异性的荧光原位杂交 (FISH) 技术等。这些技术的应用, 推动了环境微生物学的发展, 为认识环境微生物功能和开发环境微生物资源提供了很好的技术基础。

为了有助于我国研究人员更好地掌握上述现代环境微生物研究方法, 加快对环境微生物资源的开发利用, 最大限度地为人类生产、生活和科研服务, 我们编写了《环境微生物研究方法与应用》。本书共分三篇, 第一篇 (第一~三章) 为环境微生物基础知识, 介绍了环境微生物的生长、繁殖、特点、资源价值及其与生态环境的关系; 第二篇 (第四、五章) 重点介绍了现代环境微生物分析方法的机理、特点、操作方法和应用; 第三篇 (第六~八章) 重点介绍了环境微生物在具体环境污染治理中的应用, 以及环境微生物在环境友好型社会建设、社会可持续发展中的应用。

本书第一章由中国科学院南京土壤所林先贵研究员撰写, 第二章由北京化工大学林爱军老师编写, 第三章由兰州大学金樑老师编写, 第六章第三节由北京化工大学刘研萍老师编写, 第八章由日本高知工科大学习晓君博士编写, 其余章节由北京化工大学王曙光老师编写。最后由王曙光、林先贵老师统稿、定稿。

感谢北京化工大学出版基金的资助。由于编者水平有限, 难免有遗漏之处, 希望广大读者和同行批评指正。

编 者

2008 年 3 月

目 录

第一篇 环境微生物基础

第一章 概述	1
第一节 人类发展面临的环境问题	1
第二节 重要的环境微生物资源	5
第三节 环境微生物在环境污染治理中的重要性	11
第四节 环境微生物研究的展望	15
第二章 环境微生物学基础	18
第一节 环境微生物的特点及种类	18
第二节 环境微生物的营养及调控	24
第三节 环境微生物的新陈代谢及调控	28
第三章 环境微生物的生态学特性	35
第一节 环境微生物的多样性	35
第二节 环境微生物在元素生物地球化学循环中的作用	41
第三节 环境微生物与化学性污染物之间的相互影响	53

第二篇 环境微生物分析方法

第四章 传统环境微生物分析方法	59
第一节 环境微生物的分离与计数	59
第二节 环境微生物的培养	61
第三节 环境微生物的保存	64
第四节 环境微生物生物量的测定	65
第五章 现代环境微生物分析方法	68
第一节 传统环境微生物分析方法面临的挑战	68
第二节 现代环境微生物分析方法发展概述	69
第三节 基于 PCR 技术的环境微生物分析方法	69
第四节 磷脂脂肪酸 (PLFA) 方法	94
第五节 BIOLOG 方法	100
第六节 荧光原位杂交 (FISH) 技术	107

第三篇 环境微生物的应用

第六章 环境微生物在环境污染治理中的应用	115
第一节 环境微生物在土壤污染治理中的作用	115
第二节 环境微生物在水体污染处理中的作用	146
第三节 环境微生物在固体废物处理中的作用	175
第四节 环境微生物在废气处理中的作用	188

第七章 环境微生物在环境检测与监测中的应用	197
第一节 生物传感器	197
第二节 分子水平的微生物监测技术	201
第三节 发光细菌检测技术	213
第八章 环境微生物友好技术及产品	218
第一节 环境友好型社会的由来及内涵	218
第二节 环境微生物清洁生产技术	219
第三节 环境微生物友好材料	233
第四节 环境微生物废物资源化技术	248
第五节 环境微生物废物能源化技术	254
第六节 环境微生物污染预防技术	264
参考文献	273

第一篇

环境微生物基础

第一章 概述

人类的发展面临着日益严峻的环境问题，包括土壤环境、水体环境、大气环境、固体废物以及噪声、辐射污染等，环境污染治理迫在眉睫。人类长期自发地与环境微生物打交道，并凭着经验在实践中开展利用有益环境微生物和防治有害环境微生物的活动，特别是随着环境微生物学的创立与发展，人们不断加深了对环境微生物多样性及其生态功能的认识，环境微生物已成为推动人类发展的一项重要资源。各种各样的环境污染对环境微生物产生了重大影响，而环境微生物也将在环境污染治理中发挥重要作用。

第一节 ● 人类发展面临的环境问题

在环境科学中，一般认为“环境”是指围绕着人群的空间，以及其中可以直接或间接影响人类生活和发展的各种自然因素和社会因素的总体。环境包括自然环境和社会环境，是人类生活所需的一切基本条件的综合体。本书所指的环境特指自然环境，不包括社会环境。自然环境是指各种自然形成的或经过人工改造的、对人类生存和发展产生明显影响的自然因素。地球上适合人类生存的环境经历了一个漫长的形成过程，而地球在人类的参与下已经发展演替成一个多层次多单元的复杂环境系统。这个环境系统从要素上来看可以分为土壤环境、水体环境及大气环境等，从人类干预与否可以分为天然环境和人工改造过的环境。由于人类活动的日益广泛，地球上未经人类改造的自然环境已所剩无几。

人类的生存环境在时间上总是随着人类认识水平的提高而发展，在空间上总是随着人类活动领域的拓展而扩展。然而，人类与其生存环境之间是对立统一的矛盾关系：一方面人类从环境中获取生存资料和发展空间，并通过劳动来改造自然环境，使其更好地为人类服务；另一方面，人类对环境的过度摄取和盲目改造导致了各种环境问题，被破坏的环境反过来又会惩罚人类，对人类的生存造成不利影响。环境问题就是指人类为了自身的生存和发展需要，在利用和改造自然环境的过程中所引起的环境质量变化以及这些变化对人类生产、生活和健康所造成的一系列负面效应。环境问题是人类诞生开始就存在的，主要包括两类问题：一是生态破坏问题，即资源的不合理开发利用对自然环境造成的破坏以及由此产生的各

种生态效应；二是环境污染问题，即人类活动所引起的环境质量下降而有害于人类及其他生物的正常生存和发展。环境污染的产生有一个量变到质变的过程，当进入环境中的某种污染物的浓度或总量超出环境自身净化能力时，就会产生危害。在现实当中，这两类问题并不是截然分开、孤立存在的，而往往是相互交错、相伴而生的。

长期以来，科学技术的进步和社会经济的增长被视为社会文明进步的标志。工业革命有力地推动了社会的发展，并迅速地改变社会面貌，但伴随着人类社会一味追求经济高速增长和城市化进程的同时，人类将直接面对着由此而引起的人口急剧增加、自然资源逐渐耗尽、工农业污染等生态环境破坏和环境质量下降等一系列影响着人类生存与发展的全球性环境问题。事实上，人类当前已经面临以下几大突出环境问题：温室效应、臭氧层破坏、酸沉降、生物多样性减少、土壤荒漠化、淡水资源危机、海洋环境污染、固体废弃物污染、有毒难降解化学品污染以及重大公害事件等。大众已开始关心人类自身生存的环境，对不顾生态环境保护而高速发展经济带来的一件件触目惊心的环境污染事件及一桩桩由环境问题引发的国际纠纷进行了深刻的反思，认识到我们只有一个地球，为了人类的未来，寻求经济与环境相协调的可持续发展（sustainable development）道路才是人类的唯一选择。与此同时，各种民间环境组织和政府环保机构相继成立，保护全球生态环境已成为世界各国人民的共识，“让人们喝上干净的水，呼吸上清新的空气，有更好的工作和生活环境”已经成为大家的迫切期望。

一、土壤环境

“万物土中生”，这意味着土壤具有最丰富的生命力和生产力。我们人类生活在地球上，每时每刻都与土壤发生着密切联系。世界上任何一个民族的语言中都有“土壤”一词，但不同学科的科学家对“什么是土壤”却有着各自的观点和认识。目前一个比较综合性的定义是，“土壤是历史自然体，是位于地球陆地表面和浅水域底部具有生命力、生产力的疏松而不均匀的聚积层，是地球系统的组成部分和调控环境质量的中心要素。”因此，土壤是地球陆地生态系统的重要基础，是自然地理环境的主要组分，是人类农业生产的根本基地，是一类极其宝贵的自然资源。现代土壤学以及环境科学、生态学的研究拓展了人们对土壤学的理解，认为土壤学的研究不应局限于土壤物质本身，而应朝着圈层方面发展，即研究土壤与生态环境及地球圈层间的相互关系。鉴此，马特森（S. Matson）于1938年提出的土壤圈（pedosphere）概念得到了进一步的发展。现在认为，土壤圈是覆盖于地球陆地表面和浅水域底部的一种疏松而不均匀的覆盖层及相关的生态环境体系，是地球系统的重要组成部分，处于大气圈、水圈、生物圈、岩石圈的界面与中心位置，是最活跃、最富有生命力的圈层。土壤圈与土壤密不可分，但两者又有明显的区别：土壤特指的是物质，是具体的；而土壤圈则是指土壤与其环境构成的整体，是宏观的、概念性的，强调与其他圈层的相互关系和相互影响。

土壤污染是环境土壤学研究者最为关注的问题，但对其理解目前尚未统一，其中比较综合的定义是“人为因素有意或无意地将对人类本身和其他生命体有害的物质施加到土壤中，使得某种成分的含量明显高于原有含量、并引起现实的或潜在的土壤环境质量恶化的现象”。土壤污染由工业污染物、农业污染物、生物污染物或放射性污染物进入土壤所引起，主要源于农业废弃物与畜禽粪便的排放、农药与除草剂的施用以及污水灌溉等。概括来说，土壤污染具有潜伏期长、隐蔽性好、不可逆转、长期残留以及后果严重等几大特点。其中，土壤生物污染是指各种外来动物、植物和人为病原菌的入侵，尤其需要格外关注。

污染物在土壤中大量积累，尽管大部分残留于耕作层中，但有相当数量的污染物，尤其是重金属污染物，可在种植作物时转移至植物或其他生物体内，从而引起食物污染。另外，土壤中积累的污染物可随地表径流进入附近水域，引起水体污染，亦可随灌溉、淋洗、渗滤进入地下水，造成地下水污染，危害极大。“民以食为天，食以土为本”，土之不净，人将焉附？因此，研究土壤环境污染的发生与控制以及污染土壤的环境治理和生物修复均是十分紧迫的任务。

二、水体环境

水体是指以相对稳定的陆地为边界的天然水域，即由水及水中的悬浮物质、溶解物质、水生生物、底泥等构成的完整生态系统，包括河流、湖泊、沼泽、水库、冰川、海洋以及地下水等多种形式，它是地表被水覆盖的自然综合体。水体是人类赖以生存和发展的主要自然资源，也是参与生物地球化学循环的重要环境因素，同时它对环境变化也具有相当的敏感性。在太阳辐射和地心引力的作用下，地球上的水在径流、蒸发、凝结、降落的往复交替过程中形成水循环，水循环又将各类特征不同的水体联系起来构成水圈。水圈中的水在循环过程中与大气圈、生物圈、岩石圈之间形成相互制约的有机整体，水也因周而复始的重复利用而成为可再生性资源。

由于人类在生产生活活动过程中向水体排放各类污染物质，使其理化性质和生物群落发生重大变化，从而降低甚至丧失了水体的使用价值，这称为水体污染。生活污水、工业废水、农业污水以及被污染的雨水等是水体环境的主要污染源，污水排放量大、处理率低是造成水体严重污染的一个关键原因。污染水体中含有各种各样的化学污染物，其主要特点是种类繁多不定、成分复杂多变、理化性质多样、可生物处理性差异大。总体来看，可生物降解性有机污染物进入水体后一般在微生物的作用下得到降解，而难生物降解性污染物往往以一种或多种形态长期存留在水体环境中，造成永久性的潜在危害。

水体富营养化（Eutrophication）是水体污染的一种最典型的表现，它是指水体中氮、磷等营养物质过剩，引起藻类等浮游生物大量繁殖、水体与大气间正常的氧气交换受阻、水体溶解氧含量下降、水质恶化、鱼类及其他生物大量死亡的现象。生活中常见的“由蓝藻暴发而形成一层蓝绿色而有腥臭味的浮沫，即水华”和“赤潮”，就是由于水体富营养化引起的典型现象。富营养化不仅使水体丧失应有的功能，而且使水体生态环境质量朝不利于人类的方向演变。目前经济发达、地表水资源丰富的长三角“苏锡常”地区，也发生了饮用水危机这样的结构性缺水问题。地表水和地下水污染在城市和乡村扩散开来，给人民群众的生产生活带来极大的威胁，也给区域的可持续发展带来隐患。水体污染已成为一个世界性的环境问题。水是生命之源，我国也正面临水资源紧缺和水质恶化的双重影响，开展保护水的研究工作已是一项迫切而重要的任务。

三、大气环境

大气是指围绕在地球外部的空气层，是多种气体的混合物，由恒定组分和可变组分组成，其中恒定组分系指氮、氧、氩及微量的氦、氖、氦、氙等稀有气体，可变组分主要是指易受地区、季节、气象以及人类的生产生活活动等因素影响的二氧化碳、水蒸气等。洁净大气就是由恒定组分及正常状态下的可变组分组成的大气，对生活在空气里的生命来说，它比任何东西都重要。按温度垂直变化的特点，大气圈可分为对流层、平流层、中间层、电离层和散逸层。大气通过吸收作用削弱太阳辐射到地面的能量，通过地面辐射和大气辐射来保持

大气的温度，又通过逆辐射作用保持地球表面的热量平衡，为人类生存提供了适宜的温度环境。

由于污染物或由其转化成的二次污染物进入大气的浓度达到对人类和其他生物有害的程度，造成大气环境质量下降或引起全球气候变化，称为大气污染。大气污染物的种类很多，根据各自的特点和作用可以分为有害气体类、烟雾尘土类以及微生物悬浮气溶胶类。大气中的 CO_2 、 CH_4 、 NO_x 、 HF 和碳氢化合物等是引起全球气候变暖的温室效应气体， H_2S 和 NH_3 是使大气产生臭味并可致人死亡的气体， CO 是无色无味但可致人窒息死亡的气体， NO_2 和 SO_2 可以导致酸雨。随着全球工业化进程的加快，大气中温室气体的含量正在以惊人的速度增加，温室效应也愈加明显，引起全球的强烈关注。烟灰、烟尘、光化学烟雾等烟雾尘土污染物以固体或液体微粒悬浮于空气中，不仅影响空气清洁度和可视距离，而且会侵入人类和动物的呼吸系统，严重危害健康。微生物以气溶胶的形式存在于大气中，尽管大气不是微生物长期存留的理想场所，但由于风、海浪等自然因素以及人和动物的活动等，使微生物不断地进入大气环境中，并在某些特定环境中维持一定的浓度，破坏了大气的健康质量。

近几十年来，在不少国家发现酸雨，即雨雪的酸度增高，使河流、湖泊及土壤酸化，鱼类减少甚至灭绝，森林发育受到影响，这与大气污染是有密切关系的。随着我国城市化步伐的不断加快，城市大气除受以工业生产和冬季燃煤取暖为主的煤烟污染外，以汽车尾气、建筑工地扬尘和城市垃圾为代表的新污染源也在逐年增加，污染物的类型趋于更加多元化和复杂化。大气环境污染不仅造成了巨大的经济损失，而且也制约着经济的可持续发展。我国城市严重的大气环境污染状况在国际上也造成了不良的影响，首都北京曾被世界卫生组织列为大气环境污染最严重的世界十大城市之一。因此，控制大气环境污染也是一项迫在眉睫的任务。

四、固体废弃物

固体废弃物是指人类在社会生产、流通、消费以及日常生活过程中产生的、丧失原有使用价值而被丢弃的固态或泥状物质，或是提取目的组分后弃之不用的剩余物质。固体废弃物来自人类生产生活过程中的许多环节，主要包括城市生活的固体垃圾、工矿企业生产中产生的固体废弃物以及农业生产和农村生活过程中产生的废弃物等，其按来源一般可分为产业固体废物（包括工农业固体废物）、生活消费固体废物、有害固体废物和放射性固体废物。固体废弃物是所有污染物质的终极状态，含有各种各样的有害成分，如重金属、有毒有害有机污染物以及各类病原微生物等。这些有害固体废弃物如果处置不当，就会通过物理、化学或生物途径污染环境、危害人体。而且，在自然因素的长期作用下，固体废弃物也会转入大气、水体或土壤中，再次成为农业生产和人类生存环境的污染“源头”。

当前我国是世界上人口最多的国家，拥有城市 660 多座。随着全国城市化进程的不断加快，城市和城镇人口不断增加，生活垃圾和工业垃圾产生量也在不断增长，固体废弃物已成为一个严重的环境问题。目前比较突出的影响是，固体废弃物随意弃置，侵占了大量土地，严重破坏周边农田生态系统，已成为土壤的一个重要污染源，其中的一些有害成分还可通过食物链危害人体健康。堆积的固体废弃物经过雨水的浸渍和自身的分解，会产生含有有害成分的渗滤液，从而对附近地区的地表水体和地下水造成污染。堆放的固体废弃物中的细微颗粒、粉尘等可随风飞扬，从而也会对大气环境造成污染。一些易生物降解的有机固体废弃物在微生物的作用下发酵腐败，散发出难闻的恶臭。还有一些含蛋白质或脂肪较多的废弃物

在腐败过程中还可能成为苍蝇和蛆虫的滋生地，恶化周围的环境卫生。

但是，固体废弃物并非是毫无用处的“废物”，它们不仅蕴涵有大量的能源物质（碳素），而且拥有丰富的作物生长所需营养物质（氮、磷、钾和微量元素），只是目前的科学技术和经济条件尚不能将它们有效利用而已。有机固体废弃物有时候被人们称为“被放错地方的资源”，它们潜在的利用价值已开始为人们所认识，许多从事这方面研究的科学家已致力于将固体废物“变废为宝”的工作，其中利用微生物进行生物处理和资源转化具有其他方法难以达到的效果，很有发展前景，值得深入开展研究。

第二节 ● 重要的环境微生物资源

微生物（microorganism, microbe）是一切肉眼看不见或看不清楚的微小生物的总称。它们是一些个体微小、构造简单的低等生物，包括属于原核类的古菌、细菌、放线菌、蓝细菌、支原体、衣原体、立克次体，属于真核类的真菌（酵母菌和霉菌）、原生动物、显微藻类，以及属于非细胞类的病毒、类病毒和朊病毒等。环境微生物作为普通微生物的重要组成部分，具有与普通微生物一样的特点，并在微生物学基础上得到发展，其功能和价值随着环境微生物资源的开发和保护而得到体现。

一、微生物的特点

微生物由于其形体都极其微小，因而具备五个共性，即体积小、面积大，吸收多、转化快，生长旺、繁殖快，适应强、易变异，分布广、种类多。其中，体积小、面积大是微生物五大共性的基础，由它可衍生出一系列其他共性，因为一个比面值（即“面积/体积”）大的系统必然有一个巨大的营养物质吸收面、代谢废物排泄面和环境信息接受面。

高等生物的分布区域常有明显的地理限制，而微生物却能在各种环境中利用各种不同的基质生长，成为自然界中分布最广的一群生物。微生物只怕明火，所以地球上除了火山的中心区域外，从土壤圈、水圈、大气圈直至岩石圈，到处都有微生物家族的踪迹。在土壤、河流、空气，平原、高山、深海，冰川、温泉、沙漠，盐湖、油井、淤泥，地层下、酸性矿水中以及动植物体内外，都有大量与其环境相适应的微生物在活动着。此外，微生物还可以形成各种类型的休眠体，以抵抗不良的环境并适宜于微生物的传播，如细菌的芽孢、黏细菌的孢囊、真菌的分生孢子、厚壁孢子和菌核等。微生物在自然界中的分布几乎达到“无孔不入”的地步，被认定为生物圈上下限的开拓者和各种记录的保持者。

二、微生物学的创立与发展

在人类发现微生物之前，人们对微生物世界处于无知状态，对眼前的微生物往往表现出“视而不见、嗅而不闻、触而不觉、食而不察、得其益而不感其好、受其害而不知其恶”的蒙昧状态。当时的人类虽未见到微生物的个体，却长期自发地与微生物打交道，并凭着经验在实践中开展利用有益微生物和防治有害微生物的活动。

1676年，微生物学先驱列文虎克（Anthony van Leeuwenhoek, 1632—1723, 荷兰）用自制的单式显微镜首次观察到细菌的个体，他被认定是第一个精确描述微生物世界的人。之后，微生物学奠基人路易·巴斯德（Louis Pasteur, 1822—1895, 法国）和细菌学奠基人罗伯特·科赫（Robert Koch, 1843—1910, 德国）等先后创立了一系列研究微生物的独特方法和技术，并在理论上取得了大的突破，微生物学以独立的学科形式开始形成。1897年，

德国人 Buchner 用无细胞酵母菌压榨汁中的“酒化酶”(Zymase)对葡萄糖进行酒精发酵成功,从而开创了微生物生化研究的新时代。此后,关于微生物生理和代谢的研究蓬勃开展开来,其中还掀起了寻找和研究抗生素的热潮。1953 年 4 月 25 日, Watson 和 Crick 在英国《自然》杂志上发表了关于 DNA 结构的双螺旋模型,标志着整个生命科学领域进入了分子生物学研究的新阶段,同样也是微生物学发展史上成熟期到来的标志。

所谓微生物学,是指在细胞、分子或群体水平上研究微生物的形态构造、生理代谢、遗传变异、生态分布和分类进化等生命活动基本规律,并将其应用于工业发酵、医学卫生和生物工程等领域的科学,其基本任务是发掘、利用和改善有益微生物,控制、消灭或改造有害微生物。但是,我们目前研究微生物的基本手段,常规上还是依赖科赫等建立的、在实验室条件下对微生物进行分离和培养的技术,而自然界中存在的微生物已被人们认识的仅占很少一部分,因为大多数微生物在目前的条件下尚不能或很难在实验室进行人工纯培养,所以也难以对它们的基本特性进行研究。

三、重要的微生物资源

微生物是地球上生物量最大的生物类群,其生活的范围最广、生物多样性也最为丰富,在生物圈和地球物质循环中发挥着重要的作用。微生物生存环境和生命策略的多样性表明,它们已经解决了许多科学家目前仍在寻找解决方案的问题。无论是作为探索各种生命过程、生态和生物进化原理的研究对象,还是在工、农、医药、食品及环境整治、能源再生等领域,微生物都发挥了无法取代的作用。因此,微生物资源形成了人类赖以生存和发展的重要物质基础和生物技术创新的重要源泉。

(一) 微生物资源保藏概况

1992 年众多国家签署的《生物多样性公约》中明确指出,“生物资源是指对人类具有实际或潜在用途或价值的遗传资源、生物体或其部分、生物群体或生态系统中任何其他生物组成部分”。在生物资源中,微生物资源与人类关系密切,凡是动植物可以利用的物质,微生物都可以利用,而动植物不可以利用的,甚至是剧毒物质,微生物也可以利用,并且可降低或消除有毒物质对环境的不利影响。

我国已经把微生物资源作为国家战略性生物资源的一部分,支撑着我国农业、林业、工业、医学、医药和兽医微生物学研究、生物技术研究及微生物产业的持续发展。为了加大对微生物资源的保护与利用,我国于 1979 年成立了国家微生物菌种收集保藏专门机构,目前已收集各种有用微生物 3 万多株,为微生物开发奠定了良好基础(如表 1-1 所示)。

表 1-1 我国主要菌种保藏管理中心

机 构 名 称	挂 靠 单 位
国家级菌种保藏中心	
中国农业微生物菌种保藏管理中心(ACCC)	中国农业科学院土壤肥料研究所
中国工业微生物菌种保藏管理中心(CICC)	中国食品发酵工业研究院
中国医学微生物菌种保藏管理中心(CMCC)	中国药品生物制品检定所
中国兽医微生物菌种保藏管理中心(CVCC)	中国兽医药品检定所
中国林业微生物菌种保藏管理中心(CFCC)	中国林业科学研究院
中国抗菌素菌种保藏管理中心(CACC)	中国医学科学院医药生物技术研究所
中国普通微生物菌种保藏管理中心(CCGMC)	中国科学院微生物研究所

机 构 名 称	挂 靠 单 位
地方菌种保藏机构	
中国典型培养物保藏中心(CCTCC)	武汉大学
上海农业基因中心	上海市农业科学院
华中农业大学菌种保藏中心(CCDM)	华中农业大学
北京农业大学菌种中心	北京农业大学
海洋微生物中心(CMBGCAS)	无
香港大学保藏中心(HKUCC)	香港大学
香港中文大学保藏中心(CUHK)	香港中文大学
台湾生物资源保藏研究中心(BCRC)	台湾新竹

中国微生物界最大的菌种保藏组织是中国微生物菌种保藏管理委员会（CCCCM），其下属有中国科学院微生物研究所、中国科学院武汉病毒研究所、中国农业科学院土壤肥料研究所、轻工业部食品发酵工业科学研究所、中国医学科学院皮肤病研究所、卫生部药品生物制品检定所、中国医学科学院病毒研究所、中国医学科学院抗菌素研究所、四川抗菌素工业研究所、华北制药厂抗菌素研究所、农业部兽医药品监察所、中国林业科学院林业研究所等单位。目前这些单位已经联合建立了我国第一个统一数据结构的国家级菌种保藏数据库——中国微生物菌种目录数据库，它适合我国微生物学界、医学界的科研人员在寻找微生物菌种时使用。该库可在网上进行查询。

国外发达国家微生物菌种资源库建立的很早，有的已达近百年历史。发达国家的菌种保藏中心具有相对的独立性和相当强的研究力量及研发部门，除了稳定的资金支持外，还有一支基础较好的研究队伍，共享和管理机制健全。储藏的微生物资源较丰富，而且信息量大，不但可提供微生物资源，很多还可提供技术服务。国际菌种保藏联合会（WFCC）由 62 个国家的 464 个菌种保藏管理机构组成，主要菌种保藏管理机构如表 1-2 所示。

表 1-2 国际上主要菌种保藏管理机构

机 构 名 称	所在国家	保 藏 范 围
中国典型培养物保藏中心(CCTCC)	中国	各类培养物
中国普通微生物菌种保藏中心(CGMCC)	中国	普通微生物
比利时微生物保藏中心(BCCM)	比利时	大多微生物
澳大利亚国家分析试验室(AGAL)	澳大利亚	微生物
保加利亚菌种保藏库(NBIMCC)	保加利亚	微生物
捷克微生物保藏所(CCM)	捷克	普通微生物
法国微生物保藏中心(CNCM)	法国	各类培养物
德国微生物保藏中心(DSM)	德国	普通微生物
匈牙利国家农业和工业微生物保藏中(NCANIM)	匈牙利	工业微生物
日本国家生命科学和人类技术研究(NIBH)	日本	各类培养物
日本微生物菌种保藏中心(JCM)	日本	普通微生物
荷兰真菌保藏所(CBS)	荷兰	真菌
韩国微生物保藏中心(KCCM)	韩国	微生物
韩国典型培养物保藏中心(KCTC)	韩国	各类培养物
俄罗斯微生物保藏中心(VKM)	俄罗斯	工业微生物
俄罗斯科学院微生物理化所(IBFM-VKM)	俄罗斯	各类培养物
俄罗斯国家工业微生物保藏中心(VKPM)	俄罗斯	工业微生物
斯洛伐克酵母保藏所(CCY)	斯洛伐克	酵母菌
西班牙普通微生物保藏中心(CECT)	西班牙	普通微生物

机 构 名 称	所在国家	保 藏 范 围
英国藻类和原生动物保藏中心(CCAP)	英国	藻类、原生动物等
国际真菌学研究所(IMI)	英国	真菌、细菌等
英国国家食品细菌保藏中心(NCFB)	英国	工业微生物
英国国家典型培养物保藏中心(NCTC)	英国	普通微生物
英国国家酵母菌保藏中心(NCYC)	英国	酵母菌
英国国家工业和海洋细菌保藏中心(NCIMB)	英国	工业及海洋细菌
美国北方农业研究所培养物保藏中心(NRRL)	美国	以微生物为主
美国典型培养物保藏中心(ATCC)	美国	各类微生物
意大利酵母菌种保藏中心(DBVPG)	意大利	酵母菌
波兰微生物菌种保藏中心(PCM)	波兰	普通微生物

(二) 微生物资源的利用

1. 农业微生物资源的利用

微生物作为一种宝贵的资源，与农业的关系十分密切。它们在土壤肥力的提高和保持，营养元素的转化，作物病虫害的防治，畜禽病害的防治，发酵饲料的制作，食用菌的生产，自然环境的保护，农副产品的加工和综合利用等方面起着极其重要的作用。

微生物肥料是将某些有益微生物经人工大量培养制成的生物肥料，又称菌肥。其原理是利用微生物的生命活动来增加土壤中氮素或有效磷、钾的含量，或将土壤中一些作物不能直接利用的物质，转换成可被吸收利用的营养物质，或提供作物的生长刺激物质，或抑制植物病原菌的活动，从而提高土壤肥力，改善作物的营养条件，提高作物产量。根据其功用大致可分为：①增加土壤氮素和作物氮素营养的菌肥，如根瘤菌肥、固氮菌肥、固氮蓝藻等；②分解土壤有机质的菌肥，如有机磷细菌肥、综合性菌肥；③分解土壤难溶性矿物质的菌肥，如钾细菌肥、无机磷细菌肥；④刺激植物生长的菌肥，如抗生素肥；⑤增加作物根吸收营养能力的菌肥，如菌根菌肥。

微生物农药是利用微生物本身或其代谢产物作为防治植物病虫害的制剂。微生物农药主要包括微生物杀虫剂、农用抗生素、微生物除莠剂三大类。其中微生物杀虫剂主要包括细菌制剂（如苏云金杆菌、青虫菌等）、放线菌制剂（如杀螨菌素）、真菌制剂（如白僵菌、绿僵菌）和病毒制剂（如核多角体病毒、颗粒体病毒）等。微生物农药是公认的“无公害农药”，防治对象不易产生抗药性，不伤害天敌，所以它的应用备受重视。

许多微生物能分泌激素物质，有些激素物质对动植物具有刺激生长作用，如赤霉素、硫磺胺、维生素 B₁₂、组氨酸、腺嘧啶等，这些物质能调节有机质的矿化和营养物质的转化过程，改变生物体内外环境，促进或加速动植物的新陈代谢作用，促进酶活性的提高和核酸蛋白质的合成，对促进和调节动植物组织和器官的生长发育具有重要影响。

微生物在人畜粪便处理、城市污泥和生活垃圾堆肥、沼气发酵等废物资源化技术方面应用较广，如利用有机废物生产甲烷、乙醇、氢气等生物能源产品，应用酵母和光合细菌净化高浓度有机无毒废水生产细胞蛋白等，同时生产饲料和饵料；利用废纤维素生产燃料乙醇；利用木材废弃物所含半纤维素生产木糖及木糖醇等。这些已成为废弃物能源化与资源化的有效途径。

2. 工业微生物资源的利用

我国目前正面临着资源短缺、环境安全危机、传统产业落后等方面的严峻形势，而工业微生物是可持续发展的一个重要支撑，是解决资源危机、生态环境危机和改造传统产业的根

本技术依托之一。工业微生物指用于食品工业、发酵工业、轻化工、生物转化以及石油、环保等工业领域的微生物,是最早被人类开发利用的微生物资源之一。在过去的几十年里,微生物在抗生素(青霉素、链霉素、红霉素、金霉素、土霉素等)、氨基酸(谷氨酸、赖氨酸、脯氨酸、精氨酸、天冬氨酸、丙氨酸等)、有机酸(柠檬酸、乳酸、衣康酸、葡萄糖酸钙、酒石酸等)、酶制剂、维生素、核苷酸、激素、食品、酿造等工业生产过程中起了非常重要的作用;近年来,微生物在能源生产、环境保护、清洁生产、绿色化工等方面受到了更多的重视,可以说,工业微生物支撑着世界经济的发展。今后,微生物将在能源、环境保护等方面发挥更大的作用。

3. 海洋微生物资源的利用

我国的海洋微生物资源十分丰富,拥有 470 多万平方公里的海域、18000km 的海岸线,海洋资源纵跨温带、亚热带、热带。到目前为止,我国海洋资源开发滞后,特别是微生物、浮游生物的开发偏少。世界范围内海洋微生物的种类和总量要比陆栖微生物多得多。全球已发现的微生物约有 150 多万种,其中 7.2 万种存在于陆地,而已进行研究的海洋微生物只有 1500 种,仍有大量的海洋微生物有待开发。海洋的区域环境存在多样性和特殊性,高盐、高压、低温、低营养和无光照的生态环境,使海洋微生物普遍具有独特的代谢途径和遗传背景,从而具备产生有特殊结构和功能的活性物质的能力。很多海洋微生物,即使在分类学上与已知的陆栖微生物相似,但由于适应了海洋的特殊环境,往往能产生相应的陆栖微生物所不能产生的新颖生物活性物质。海洋生物间存在着各种共生现象,并广泛存在生存竞争,在生存竞争的过程中造就了大量的已知和还在探寻中的海洋生物活性物质。研究表明,海洋动植物的共附生微生物拮抗菌的比例高于海洋沉积物,海洋微生物的初始来源,绝大部分来自与海洋大型动植物共栖或共生的海洋微生物。

4. 极端环境微生物资源的利用

极端环境微生物是一类生长在被认为是生命禁区的极端环境中的微生物类群。如高温(最适生长温度在 50℃ 以上)、低温(最适生长温度在 15℃ 以下)、高盐(最适生长盐浓度在 0.2mol/L 以上)、高碱(最适生长 pH 大于 10.0)、高酸(最适生长 pH 低于 3)等,另外还有高压、高辐射、高毒性环境等。

极端环境微生物不仅具有特殊的生长特性、营养需求、繁殖规律、细胞与膜结构、蛋白及酶结构、核酸结构、基因表达及调控、修复,而且还具有特殊的代谢类型,并产生特殊的极其多样化的代谢产物,这些代谢类型和代谢产物又完全可以被人类利用。从极端环境微生物中寻找特殊基因,将其转植到其他生物,产生目的产物或性状。然而,目前对极端环境环境的微生物资源知之甚少。随着人们对极端环境微生物功能及资源的重视,有关这方面的研究也逐渐增加。如中国科学院微生物研究所东秀珠研究员主持承担的国家基础研究发展规划“973”项目“极端微生物及其功能利用的基础研究”,在物种、基因组和功能基因水平上,对高温热泉、盐碱湖、深海、高辐射区域等极端自然环境中的微生物资源的收集、生物多样性分析和生物技术开发价值的评估;在群落结构、基本生物学过程及代谢途径、功能蛋白、分子机器和特殊细胞成分等多个层面,研究这些极端微生物的生物学特点及环境适应机理,包括微生物之间的协同适应机理,建立可用于在特定极端微生物中进行遗传操作的分子元件和方法,选择若干极端功能蛋白(包括酶)及代谢途径,进行以应用为导向的理论研究和分子改造。为深度开发极端微生物资源提供良好的基础和技术。

目前,极端环境微生物的应用也呈逐渐增加趋势,如利用极端环境微生物降解有机污染物、废弃物发酵产氢、农业堆肥、湿法冶金等,极端环境微生物在很多领域已成为人类得力

的助手。最近的研究显示, 极端环境微生物是工业上比较感兴趣的新催化剂的一个好的来源。因此, 相信随着对极端环境微生物资源的开发, 其资源价值会逐渐得到体现。

(三) 微生物资源的保护

在对微生物资源开发和利用的同时, 如何有效保护微生物资源成为人类必须要面对的问题。然而, 尽管对植物与动物资源的保护意识已深入人心, 但对微生物资源的保护研究或宣传则相差甚远, 这已引起了一些学者的担忧。相对于植物与动物而言, 微生物对环境的要求更为苛刻, 抵抗能力也更弱, 加上其特殊的生理特点, 微生物资源很容易被破坏或流失。

如对云南省 22 个地区不同植被的土壤放线菌进行了调查, 发现可培养的放线菌以原始森林的种类最多, 平均分离到 9 个属。随着森林砍伐程度的加剧和耕作程度的频繁, 放线菌的种类按次: 森林, 荒地, 旱地顺序减少。旱地(耕作地)土壤仅平均分离到 5 个属。室内的观察表明, 将土壤样品放于玻璃瓶内, 室温保存 0, 10, 20d, 分别测定其细菌的存活情况。保存 10d, 细菌存活 12.5%; 保存 20d, 存活仅 0.5%, 存活的细菌都是芽孢菌, 非芽孢菌大量死亡。即使再恢复原有条件, 微生物群落结构和种类也发生了很大的变化。可见, 微生物资源保护尤其是微生物原始生境保护非常重要, 这也为开展微生物资源保护提供了思路。

微生物资源的保护可采用与其他生命形式一样的就地保护或迁地保护模式。就地保护需要与自然生态保护同步, 如自然保护区的设立, 禁止乱采滥伐等, 迁地保护需要建立专门的微生物资源保藏机构。目前这两种形式对保护微生物资源都起到了很重要的作用。为了更好的保护微生物资源, 还需要加大人们对微生物资源和保护重要性认识的宣传力度。

四、环境微生物在生态系统中的作用

环境微生物是生态系统中的重要成员, 特别是作为一个分解者的角色来分解系统中的有机物质, 其在生态系统乃至整个生物圈的能量流动和物质循环中发挥着关键作用。总的来看, 环境微生物在生态系统中的作用可以归纳为以下几个方面。

(一) 环境微生物对有机物的分解作用

环境微生物在生态系统中的最大价值在于其分解功能。绝大多数环境微生物作为异养生物, 它们分解着生物圈内存在的动物、植物和微生物的残体, 以及各种复杂有机物质, 吸收某些分解产物, 最终将有机物分解成简单的无机物, 如 CO_2 、 H_2O 、 NH_3 、 SO_4^{2-} 和 PO_4^{3-} , 这些无机物又可以被初级生产者利用, 再次参与物质循环。尤其是一些特殊物质, 如腐殖质、蜡和许多人造化合物, 只有环境微生物才能分解。如果没有环境微生物, 地球上的动植物残体将堆积如山, 长期存留于人类生存的环境中, 生物所需的各种营养元素终将消耗殆尽, 人类社会势难世代绵延向前发展。

(二) 环境微生物在物质循环中的作用

地球上的大部分元素都以不同的循环速率参与生物地球化学循环。生命物质的主要组成元素(C、H、O、N、P、S)循环很快, 微量元素(Mg、K、Na、卤族元素)和微量元素(Al、Co、Cr、Cu、Mo、Ni、Se、V、Zn)则循环缓慢。少(微)量元素中的 Fe、Mn、Ca 和 Si 是例外, Fe 和 Mn 以氧化还原的方式快速循环, 而 Ca 和 Si 在原生质外的其他结构中含量很高。C、N、P、S 的循环受两个主要的生物过程控制, 一是光合生物对无机营养物的同化, 二是后来进行的生物矿化。实际上所有的生物都参与生物地球化学循环, 但环境微生物在有机物的矿化中起决定性作用, 地球上 90% 以上有机物的矿化都是由细菌和真菌完成的。