



生命科学前沿及应用生物技术

农业微生物研究与产业化进展

李 俊 沈德龙 林先贵 主编



科学出版社

生命科学前沿及应用生物技术大系·典藏版

农业微生物研究与产业化进展

李 俊 沈德龙 林先贵 主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

应用生物技术大系和现代生命科学前沿系列图书分别被列为“十一五”和“十二五”国家重点图书出版规划项目。本丛书针对生命科学领域前沿重点发展方向以及应用生物技术领域的新成果、新思路、新方法和新技术,全面展示了其最新的发展动态,涵盖了基础理论和主要技术方法,呈现了新的概念与理论、技术,在更深层次上阐明了生命的本质规律,给人们提供了新的认识生命本质的手段,也为生物技术服务于人类开辟了新的途径。涉及领域包括生物医药、干细胞技术、工业微生物学、蛋白质及蛋白质组、系统生物学、合成生物学、生物材料、农业生物技术、环境生物技术、海洋生物技术、生物资源与安全等。

图书在版编目(CIP)数据

生命科学前沿及应用生物技术大系:典藏版/舒红兵等编著. —北京:科学出版社, 2016

ISBN 978-7-03-047487-2

I. ①现… II. ①舒… III. ①生命科学—研究②生物工程—研究 IV. ①Q1-0②Q819

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 043876 号

责任编辑:王 静 李 悦

责任印制:张 伟 / 封面设计:刘新新

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京厚诚则铭印刷科技有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 7 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2016 年 7 月第一次印刷 印张:2108

字数:49 985 000

定价:8900.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《农业微生物研究与产业化进展》

编委会名单

主 编

- 李 俊 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所
沈德龙 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所
林先贵 中国科学院南京土壤研究所

编 委 (按姓氏笔画排序)

- 马志光 广东省农业机械研究所
王 磊 南开大学
王一明 中国科学院南京土壤研究所
朱昌雄 中国农业科学院环境与可持续发展研究所
刘 勇 湖南省植物保护研究所
关大伟 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所
孙 明 华中农业大学生命科学技术学院
杜秉海 山东农业大学生命科学学院
李 力 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所
李 季 中国农业大学资源与环境学院
李晓林 中国农业大学资源与环境学院
杨苏声 中国农业大学生物学院
连 宾 中国科学院地球化学研究所
何 健 南京农业大学生命科学学院
沈世华 中国科学院植物研究所
张玉华 农业部规划设计研究院农村能源与环保研究所
张玉忠 山东大学生命科学院
陈三凤 中国农业大学生物学院
陈文新 中国农业大学生物学院

林先贵	中国科学院南京土壤研究所
姜 昕	中国农业科学院农业资源与农业区划研究所
赵其国	中国科学院南京土壤研究所
荆玉祥	中国科学院植物研究所
贺纪正	中国科学院生态环境研究中心
袁红莉	中国农业大学生物学院
高昭远	中国农业科学院农业资源与农业区划研究所
黄为一	南京农业大学生命科学学院
黄晨阳	中国农业科学院农业资源与农业区划研究所
盛下放	南京农业大学生命科学学院
葛 诚	中国农业科学院农业资源与农业区划研究所
董志扬	中国科学院微生物研究所
窦 森	吉林农业大学
褚海燕	中国科学院南京土壤研究所
燕永亮	中国农业科学院生物技术研究所

序

微生物在我国农业中的重要作用日益凸显，农业中面临的许多重大难题的解决都离不开微生物的应用。因此，近几年来，国家对农业微生物研究及产业化应用日益重视，并给予了较大的支持，使其取得了显著的进展。今后，农业微生物学的研究与产业化应用将会继续得到国家支持，其发展空间很大。

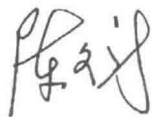
下面仅以生物固氮的研究与生产应用为例，说明农业微生物的重要性。人类认识生物固氮现象至今有 130 多年的历史，由于其特殊的重要性，世界各国从未停止对它的研究，并取得了许多重大的成果。不少成果已在农业生产实践中得到了应用，其中利用豆科作物接种根瘤菌实现高效共生固氮，及其与非豆科作物的间作、套作和轮作的种植体系，达到了较大幅度减少化肥用量、提高土壤肥力和农业可持续发展的目的。这一举措已在美国、巴西等为代表的欧美国家得到了广泛的应用。大豆等豆科作物的根瘤菌接种率在 60% 以上，每年可节省数十亿美元的化学氮肥投入，还有显著的生态效益。而在我国，30 多年来农业生产中一直过分依赖化肥，大豆种植的根瘤菌接种率仅为 2%，忽视了自然界赋予人类的生物固氮（共生固氮为其主要形式）的应用。我国长期过量使用氮肥，已引起水体富营养化、土壤酸化、温室气体（氧化亚氮）排放等严重的环境问题。因此，在借鉴国外经验的基础上，结合我国的国情，加强以共生固氮为应用目标的攻关研究，集成耕作与栽培的配套技术，提供相关的政策引导，建立相应的技术推广体系，使生物固氮在我国农业中发挥其应有的作用，这对减少化学氮肥的用量和氮污染，实现土壤肥力的提高，推动我国农业向“低碳”和“可持续发展”的方向转变是必不可少的。在我国农区的布局上，氮含量高的区域实行豆、禾、经济作物间套轮作，可缓解和排除“氮阻遏”的障碍，发挥根瘤菌的固氮作用，实现两种作物互惠和高产；在有条件的草地发展一定面积的豆、禾、牧草混播种植制度。做好这一措施可达到“五保”目标，即保粮食安全，保畜牧业发展，保环境友好，保社会效益，保持续发展。可见，其科学意义和现实意义非常重大。

除上述提到的生物固氮的研究与应用之外，农业微生物还在培肥地力，提高化肥利用率，抑制农作物对硝态氮、重金属、农药的吸收，净化和修复土壤，降低农作物病害发生，促进农作物秸秆和城市垃圾的腐熟利用，保护环境，以及提高农作物产品品质和食品安全等方面表现出不可替代的作用，农业微生物产业化、规模化发展为发挥微生物在维持与提高土壤肥力，保持土壤质量及健康，实现农业生产的持续、稳定发展和保障农产品质量与安全提供了重要支撑。这些方

面的具体内容，均在该书中有相应的专题进行阐述。

鉴于农业微生物学的研究与应用对我国农业可持续发展的不可替代作用，需要国家在“十二五”期间，继续支持农业微生物的应用基础研究，大力推进以微生物肥料和微生物农药为代表的农业生物产业发展，着力推进行业的创新能力建设，加快产业化发展。同时，进一步加强产、学、研的相互结合，整体提升微生物肥料和微生物农药的研发与产业化能力，扩大推广应用范围，发挥其在农业可持续发展、农产品质量安全、节本增效和节能减排等方面的综合效应。

该书由从事农业微生物研究、教学、生产、推广等方面的专家和学者共同编著，内容较为全面，既有近几年农业微生物学研究的新进展，也有这一领域产业化方面的新发展；表述上深入浅出，针对性强，有较高的学术水准和前瞻性，将对本学科的创新与产业发展起到积极的推动作用；该书以专题的形式安排，便于读者选择使用。相信该书的出版将有助于科技工作者、产业化人员和有关推广部门了解、把握农业微生物的重要研究进展和产业发展动态与趋势。



中国科学院院士

2011 年春

前 言

本书是在我国农业微生物研究与产业化处于快速发展阶段，其制品在农业生产作用日益凸显、国家持续加大支持力度的背景下，我们组织国内从事农业微生物研究、教学、质量标准、生产、技术推广应用等方面的专家和学者共同编著而成。其主要目的既是为了总结近几年农业微生物研究与产业化所取得的新成果和新进展，更重要的是力图从中凝练出未来本领域研究及产业化的发展方向 and 核心内容，以推动本学科的创新与产业发展。

近 10 年的农业生产实践证明，以微生物肥料和微生物农药为代表的农业微生物产品在维系与提高土壤生产力、改善农产品品质、降低病虫害发生、保护农田生态环境以及夯实国家粮食安全等方面起到了不可或缺的作用。因此，农业微生物研究与产业化得到了国家的重视和支持，取得了许多新成果和新进展。农业微生物研究进展突出表现在农用微生物资源、重要农用微生物功能基因组研究和微生物修复三个方面：农业微生物各种类资源建设已跃上一个新台阶，目前我国收集、保藏、鉴定的菌种库藏资源达 15 000 余株，并对资源开展了功能基因发现、新代谢物发掘等研究，为农业微生物产业化提供了菌种保证；重要农用微生物功能基因组研究已揭开序幕，其作用机制研究不断深入，为其应用的拓展和效果的稳定奠定基础；以土壤的微生物修复和秸秆等有机物料的微生物腐解为代表的研究，取得了显著进展，提出了土壤的微生物调控措施和消减对策，是实现土壤健康维护及其生产力持续提高的一条根本途径。现阶段是我国农业微生物产业化发展的黄金时期，自 2008 年以来，无论是国家政策，还是产业化专项，均是有史以来力度最大、涉及面最广的时期，为我国农业微生物产业发展提供了极其良好的机遇。我国微生物肥料产业近几年来发展迅速，已形成了 800 多家生产企业、产能 800 万 t、产值超百亿元的产业规模。在国家生物产业发展战略中，明确指出微生物肥料和微生物农药是生物农业领域产业的重要产品，是生物产业的组成部分，发展前景广阔。

本书是农业微生物学各方面专家和学者智慧的结晶。作者中既有我们尊敬的陈文新院士、赵其国院士和老专家，又有年富力强的中青年学者和骨干。本书在内容上，不仅涉及微生物与土壤质量、微生物与养分循环利用、微生物功能基因组与蛋白质组学、微生物作用分子机制、微生物与土壤生物化学、微生物分子生态学、微生物新资源、生物固氮、有机物料的微生物腐解、微生物肥料产业化等研究与应用的热点领域，而且还涉及微生物农药、微生物农田环境治理、食用菌

等领域。在本书的结构上，分为农业微生物综合研究进展、微生物肥料研究与产业化、农业微生物其他研究与应用和微生物肥料标准摘录四个部分；前三部分涵盖了目前广受关注的 33 个重要专题，每一专题从文前引言、目前的主要进展、展望（或应用前景）三个层次进行介绍；在本书的微生物肥料标准摘录中，摘录了微生物肥料标准体系的主要内容。全书的结构与安排，力求为读者提供查阅和使用的便利。

本书编写过程中，得到陈文新院士、赵其国院士、葛诚研究员等老专家的支持；陈文新院士亲自为本书作序，并提出宝贵建议；各位作者在繁忙的工作中认真收集资料，撰写文稿；出版社诸多同志对编写工作给予具体指导和帮助，在此一并致谢。由于时间和经验所限，作者对部分关注的领域和方向把握不够全面，疏漏及不足之处在所难免，敬请读者批评指正。

编 者

2011 年 3 月 15 日

目 录

序

前言

第一部分：农业微生物综合研究进展	1
充分发挥根瘤菌在优化我国农牧种植业体系中的重要作用——根瘤菌选种原则参考	3
土壤微生物与土壤质量研究	7
土壤微生物与全球气候变化的研究进展	20
农业微生物学研究进展与产业化发展	35
农业微生物的功能基因组学研究进展	55
固氮微生物功能基因组研究进展	68
微生物蛋白质组学研究进展	85
土壤微生物生态学研究方法进展	94
农业环境的微生物修复研究进展与应用	109
微生物对土壤腐殖质形成的影响与应用	125
嗜盐微生物的研究进展及其应用前景	135
木霉属真菌在农业生产中的应用及其作用机制	154
微生物对低品位含钾岩石的转化与利用研究	168
第二部分：微生物肥料研究与产业化	177
微生物肥料作用机制研究与技术创新	179
我国微生物肥料标准体系建设	189
微生物肥料产业发展的相关技术问题探讨	223
丛枝菌根真菌与根际养分吸收	231
木质纤维素的微生物分解机制与秸秆腐熟菌剂的组成	241
我国农业微生物肥料产业拓展与提升	259
微生物肥料生产工程设计	265
微生物肥料生态学研究进展	271
堆肥微生物及堆肥接种研究进展	279
生物固氮技术在大豆种植中应用研究进展	289
根瘤菌与非豆科植物的关系和应用研究进展	301
固氮芽孢菌研究进展与应用	313

我国微生物肥料生产中一些技术问题的探讨·····	319
有机废弃物新型快速发酵技术研发及产业化·····	332
第三部分：农业微生物其他研究与应用·····	345
PGPR 研究进展及其应用·····	347
生防微生物研究进展及其应用·····	384
土壤农药残留微生物修复技术研究进展与应用·····	405
微生物防治植物寄生线虫研究与应用进展·····	425
微生物絮凝剂的研究及其应用·····	438
食用菌研究进展及其产业化发展·····	445
第四部分：微生物肥料标准摘录·····	451
微生物肥料术语 (NY/T 1113—2006) ·····	453
微生物肥料生物安全通用技术准则 (NY 1109—2006) ·····	462
农用微生物菌剂 (GB 20287—2006) ·····	474
复合微生物肥料 (NY/T 798—2004) ·····	483
生物有机肥 (NY 884—2004) ·····	490
微生物肥料菌种鉴定技术规范 (NY/T 1736—2009) ·····	493
肥料合理使用准则 微生物肥料 (NY/T 1535—2007) ·····	497
微生物肥料田间试验技术规程及肥效评价指南 (NY/T 1536—2007) ·····	499
微生物肥料生产菌株质量评价通用技术要求 (NY/T 1847—2010) ···	507

第一部分：农业微生物 综合研究进展

充分发挥根瘤菌在优化我国农牧种植业 体系中的重要作用

——根瘤菌选种原则参考

目前我国农业生产中两大问题必须解决：一是过分依赖化学氮肥；二是作物重茬，病虫害严重，大量施用化学农药。化学氮肥不仅用量越大，肥效越低，而且生产过程需消耗大量能源并排放温室气体。我国每年生产氮肥（纯 N）3000 多万吨，需消耗 1 亿多吨标准煤，而且用量过大，作物不能吸收，大量流失，引起我国江河湖海水体污染、土壤酸化、温室气体（氧化亚氮）排放等严重环境问题。为进一步推动我国农业向“低碳”和“可持续发展”的方向转变，我们建议大力发展基于豆科植物根瘤菌共生固氮的农牧业种植体系，即优选根瘤菌接种豆科作物并与禾本科或经济作物进行间套轮作的种植体系。

从我们 30 多年来对全国根瘤菌资源的广泛、持续收集与基础及应用基础研究，获得了对根瘤菌的一些新认识，可供根瘤菌选种参考。

1 我国根瘤菌资源有极大的多样性

我们在全中国 32 个省（直辖市）708 个县不同生态环境中的近 600 种豆科植物上分离了 10 000 多株根瘤菌，对其中的近 6000 株进行了详细研究，发现它们有极大的表型和遗传型多样性，不仅分离到了别国已报道的大部分根瘤菌种，还发表了根瘤菌新属 2 属，新种 33 种，占国际根瘤菌属种的 1/3 强，其中有很多是其他国家没有的。因此，我们拥有极丰富的根瘤菌种质资源可供选育。

2 根瘤菌与宿主具共生混杂性（symbiotic promiscuity）

100 多年来一直强调根瘤菌的宿主专一性，但是，随着根瘤菌遗传多样性研究的不断扩大和深入，我们发现：一种植物可与多属、种根瘤菌结瘤固氮；而多属、种豆科植物亦可与同一种根瘤菌共生（陈文新等，2004）。Perret 等（2000）从分子水平上也揭示了这种共生关系的混杂性。这说明一种豆科植物可以拥有更

丰富的根瘤菌选种资源。

3 同种根瘤菌不同菌株与宿主共生有效性具很大差异

有人认为一种植物有一株根瘤菌作接种剂即可，何必费事去保存太多的菌株。可我们用大量菌株对大豆、花生、菜豆、蚕豆、苜蓿、紫云英等不同作物品种进行了温室盆栽匹配实验，结果表明：不同菌株对不同植物品种的共生有效性相差很大。例如，紫花苜蓿不同品种分别接种 20 多株草木樨中华根瘤菌 (*Sinorhizobium meliloti*) 45 天之后，地上部分生物量最大可增加 10 倍之多；而有的菌株与对照没有显著差异，甚至有负效应的（陈丹明等，2002）。当然若能选到广谱高效菌株，则更便于大规模生产。

4 根瘤菌分布具明显生物地理学特性

我们曾对全国各大生态地理区域的大豆、蚕豆、锦鸡儿等豆科植物的根瘤菌进行遗传背景和结瘤基因等研究和统计分析，发现它们均有明显的生物地理学特征，且各具其一定的结瘤基因谱系（Man et al., 2008；Tian et al., 2007；Lu et al., 2009）。这说明不同地区的根瘤菌适应于不同地区的豆科植物。我们曾将不同地区的蚕豆根瘤菌菌株按相同比例对甘肃的春播蚕豆进行混合接种，然后对各菌株的占瘤率进行检查，结果春播区分离的根瘤菌占瘤率为 96% 以上，冬播区分离的菌株占瘤率为零（结果未发表）。这说明不同菌株对不同作物品种、不同土壤、降水等生态条件的适应性各不相同。所以不是“有一个菌株即可以用遍天下”。

根据以上认识，我们认为进行根瘤菌选种时：可以扩大其宿主范围选择菌株；选种时必须针对作物品种进行筛选；并需选择对种植地区适应性强和竞争结瘤能力强的菌株。现在我们对优良菌株筛选必须经过三个步骤：首先用大量菌株针对作物品种接种，以蛭石（可控制营养成分）为基质进行温室盆栽，从中选出一批共生效率高的菌株；再以种植地区的土壤为基质，筛选出与土壤中土著菌竞争结瘤强、占瘤率高的菌株；最后至种植地区进行田间小区接种实验，证实其的确优秀后方可在其大区推广（Jia et al., 2008）。

5 豆科植物根瘤菌与禾本科作物间作、混播可排除根瘤菌“氮阻遏”的障碍，且两种作物互惠共高产

“氮阻遏”是指所有固氮生物在有一定量的化合氮存在的环境中即丧失其固

氮酶合成的活性。对于根瘤菌来说,“氮阻遏”会导致其在豆科作物上结瘤固氮数少。几十年来科学家们企图用基因工程手段改造菌株以排除这个障碍,但至今未见可在田间使用的效果。而我国田间化肥施用量大,土壤含氮量高,因而接种固氮生物不可能产生效果,导致固氮生物在我国农田生态系统中难有用武之地。它们的作用只能在那些荒漠贫瘠地区发挥,这极大地限制了生物固氮作用。一次,我们在云南农业大学朱有勇教授课题组进行的蚕豆、小麦间作实验田中看到:与小麦间作的蚕豆全根系被根瘤完全包被住,而同一块地单作蚕豆,根系上根瘤寥寥无几。他们的研究也证明间作条件下小麦的根分泌物有利于蚕豆的结瘤(朱有勇,2004)。除此之外,我们认为还可能有另一个重要的原因,即小麦须根系的吸肥能力强,它吸走了蚕豆根系领地的氮肥,为蚕豆根瘤菌排除了“氮阻遏”的障碍。这种观点由中国农业大学李隆教授课题组的温室盆栽实验得到确证(Xiao et al., 2004)。豆科为同茬或后茬作物提供氮素营养是早已揭示的事实,但禾本科促豆科结瘤固氮,两种作物双双高产是一个创新性发现,尤其是禾本科为豆科根瘤菌排除氮阻遏具有更广泛的意义,为在中国当前农田高氮肥土壤中推广豆科作物接种高效根瘤菌并与禾本科或经济作物间套轮作,优化我国的种植体系提供了有力的科学依据。

基于以上认识,我们对大豆、苜蓿品种进行了大范围的根瘤菌筛选及田间小区实验,均获得高增产效果。例如,2008年我们在石家庄郊县与河北省大豆育种分中心合作开展了大豆接种高效根瘤菌的田间试验,结果表明:冀豆12接种高效固氮根瘤菌 CCBAU 05525 后,大豆产量比不接菌、不追肥的对照(产量为 $2655\text{kg}/\text{hm}^2$) 增产 35.59%,比追施氮肥 ($75\text{kg N}/\text{亩}^{\text{①}}$) 的还增产 11.24%;冀豆17接种此高效固氮菌株后,大豆产量比不接菌、不追肥的对照(产量为 $3447\text{kg}/\text{hm}^2$) 增产 17.8%,比追施氮肥(量同上)增产 14.8%。2009年又开展了同样的田间试验,结果表明,冀豆12接种此高效菌株后,产量比对照增产达 19.04% (以上资料均未发表)。这些结果说明,大豆接种相匹配的高效根瘤菌不仅可提高大豆的产量,而且可替代化学氮肥的施用,从而起到防止化学氮肥过量施用对环境造成的危害,并节约成本。

除此之外,大豆接种高效固氮根瘤菌后并与玉米间作,大豆产量可高达 $4120\text{kg}/\text{hm}^2$,可以提高土地利用效率(土地当量, land equivalent ratio, LER; $\text{LER}=1.31$),还有防止玉米倒伏的作用(单作玉米易被风吹倒)。两者的根际和根内微生物种类和数量也发生了变化。接种根瘤菌的处理,大豆收获后土壤中的碱解氮含量比对照处理 ($41.7\text{mg}/\text{kg}$) 高 $36.5\text{mg}/\text{kg}$;有效磷的含量比对照土壤 ($3.9\text{mg}/\text{kg}$) 高 $10.1\text{mg}/\text{kg}$ 。这说明接种根瘤菌后有利于土壤碱解氮和有效

① 1亩 $\approx 667\text{m}^2$,后同。

磷的增加,对后茬作物的生长有利。

2006~2008年连续3年在内蒙古与刘景辉研究员合作开展的紫花苜蓿接种高效固氮根瘤菌并与无芒雀麦间作的试验结果表明:不施肥的情况下,间作的紫花苜蓿干草产量比单作的增高100%以上,无芒雀麦的干草产量与单作的增产74.12%,双双高产(未正式发表)。

综上所述,我们的看法是:不仅在我国农区应大力推广豆科与禾本科间作、套作、轮作种植体系,还应在有条件的牧区混播豆、禾牧草,优质牧草可取代部分饲料。基于此,可保我国粮食安全,保畜牧业发展,保环境美好,保农牧民增收,保农牧业持续发展。

参 考 文 献

- 陈丹明,曾昭海,隋新华,等. 2002. 紫花苜蓿高效共生根瘤菌的筛选. 草业科学, 19 (6): 27-30.
- 陈文新,汪恩涛,陈文峰. 2004. 根瘤菌-豆科植物共生多样性与地理环境的关系. 中国农业科学, 37 (1): 81-86.
- 朱有勇. 2004. 生物多样性持续控制作物病害理论与技术. 昆明: 云南科学技术出版社: 349-353.
- Jia R Z, Tian C F, Man C X, et al. 2008. Screening of high effective alfalfa rhizobial strains with a comprehensive protocol. Ann Microbiol, 58 (4): 731-739.
- Lu Y L, Chen W F, Wang E T, et al. 2009. Genetic diversity and biogeography of rhizobia associated with Caragana species in three ecological regions of China. Syst Appl Microbiol, 32: 351-361.
- Man CX, Wang H, Chen WF, et al. 2008. Diverse rhizobia associated with soybean grown in the subtropical and tropical regions of China. Plant Soil, 310 (1-2): 77-87.
- Perret X, Stachelin C, Broughton WJ. 2000. Molecular basis of symbiotic promiscuity. Microbiol Mol Biol Rev, 64: 180-201.
- Tian CF, Wang E T, Han T X, et al. 2007. Genetic diversity of rhizobia associated with Vicia faba in three ecological regions of China. Arch Microbiol, 188 (3): 273-282.
- Xiao Y B, Li L, Zhang F S. 2004. Effect of root contact on interspecific competition and N transfer between wheat and fababean using direct and indirect ^{15}N techniques. Plant Soil, 262: 45-54.