

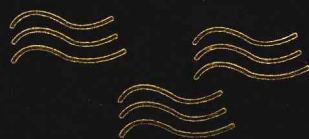
陆地—海洋 微生物研究

理论·应用·新方法

STUDIES ON TERRESTRIAL &
MARINE MICROORGANISM

THEORETICAL WORKS
APPLICATIONS
NEW METHODS

王书锦 主编



 辽宁科学技术出版社

陆地—海洋微生物研究

理论·应用·新方法

王书锦 主编

STUDIES ON TERRESTERIAL & MARINE MICROORGANISM

Theoretical works

Applications

New methods

EDITOR-IN-CHIEF

SHU-JIN

江苏工业学院图书馆
藏书章

辽宁科学技术出版社

沈阳

ISBN 7-5381-4123-5



9 787538 141238 >

图书在版编目(CIP)数据

陆地—海洋微生物研究理论·应用·新方法/王书锦
主编. —沈阳:辽宁科学技术出版社, 2004. 9

ISBN 7-5381-4123-5

I. 陆... II. 王... III. ①土壤微生物—研究②海
洋微生物—研究 IV. ①S154.3②Q939

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 125513 号

出版发行:辽宁科学技术出版社

(地址:沈阳市和平区十一纬路 25 号 邮编:110003)

印刷厂:中国科学院沈阳分院印刷厂

经销者:各地新华书店

幅面尺寸:185mm×260mm

印 张:26.5

字 数:670 千字

插 页:8

印 数:1~1000

出版时间:2004 年 9 月第 1 版

印刷时间:2004 年 9 月第 1 次印刷

责任编辑:李丽梅

封面设计:杜 江

版式设计:于 浪

责任校对:张丽萍

定 价:88.00 元

联系电话:024-23284354

邮购热线:024-83970387

E-mail:lkzsb@.mail.lnpgc.com.cn

http://www.lnkj.com.cn

内 容 提 要

本书汇集了中国科学院沈阳应用生态研究所关于土壤微生物研究和海洋微生物研究的最新成果,并对陆地—海洋微生物研究发展态势的认识进行了阐述。书中对土壤微生物研究、海洋微生物研究做了简明的介绍,刊载了陆地—海洋微生物应用生态研究、资源开发利用、研究新方法和资源产业化等方面的科研论文,详细介绍了著作者在从事陆地—海洋微生物研究工作中所积累的较好的和改进的试验方法和结果,另外也介绍一些有产业化前景的新技术、新工艺以及科研成果转化为生产力的实践结果,并提出了对中国陆地—海洋微生物研究发展的展望。该书内容丰富,见解新颖,基础理论知识、生产实践应用、新资源产业化与实验技术并茂。本书附录并刊载了部分培养基制备,具有应用参考价值。该书的新成果、新进展对促进我国这一领域的科研工作的发展,促进我国国民经济发展具有重要的现实意义。本书可供微生物学研究工作者、大专院校师生、有关生物技术企业以及管理部门人员参考使用。

序 言

新世纪的钟声已经敲响,人类已经进入了 21 世纪,要实现新世纪的发展目标,必须要看到传统的生物技术已经发生了重大的变化,我们土壤微生物研究工作者对粮食、能源、环境、资源的认识深度、广度和研究的重点也正在发生重大的变化,逐步从研究微生物在土壤中的作用与应用中走了出来,而面向国民经济的发展需要和科学技术新进步的需要,研究重点已逐步从陆地土壤表层走向深部,并从陆地走向海洋,土壤微生物资源利用也已从单纯注重细菌肥料的开发应用,到生物有机复合肥缓释可控肥的工业化生产和应用,为绿色食品做贡献。已考虑到以可持续发展为目标的陆地—海洋微生物资源的合理开发利用与环境保护并重,以及大量引用生物技术新发展。交叉学科的综合研究迅速发展,孕育着本学科将出现新的突破。当今世界已迅速地进入崭新的现代生物技术时代,可以预见 21 世纪将是中华民族重现辉煌的世纪。我们着手编著《陆地—海洋微生物研究(理论·应用·新方法)》时的主导思想,就是首先考虑到我们土壤微生物学科今后如何为完成我国现代化做出新的贡献和在新世纪发展的主题。

中国科学院沈阳应用生态研究所微生物研究室从 20 世纪 50 年代初开始进行土壤微生物方面的研究工作,在国内居先进地位,已取得了对我国农业、林业、工业、生物固氮、生物医药、生物农药和环保方面等生产有明显效益的结果。在以往工作的基础上,新世纪的科研目标要着重放在国际前沿上,重点内容上要强化创新,有所前进、有所突破。所以本书所讨论的内容主要有三点:一是陆地—海洋微生物研究的应用基础理论与科学思维方式(特别是学科方向上的战略性、基础性、前瞻性的创新认识);二是着重本学科的最活跃、最有生命力部分资源开发利用和生物活性物质的科学技术及其新工艺、新方法;三是着重本学科领域一些科研成果如何转化为生产力,实现产业化前景的一些实践成果实例和技巧;同时考虑到尽量运用新资源和高新技术。科学研究要为国民经济需要做贡献并要不断创新发展科学恰恰是当代一个从事现代陆地—海洋微生物科技工作者、科学家所应具备的科研思维之一。在本书的编写过程中,限于我们的水平,编写时间仓促,缺点和错误之处在所难免,请同行和读者批评指正。

编著者
于沈阳

致读者的话

王书锦研究员是我们尊敬的老师,他在 20 世纪 50 年代末曾是我国著名的土壤微生物学家、生物固氮专家暨我所微生物学科学术带头人及创始人张宪武教授的副博士研究生。王书锦研究员是我们攻读硕士学位、博士学位时的研究生导师,在同一研究组工作中的导师,我们在他的指导、关怀下,在微生物研究方面得到很快成长。为了庆贺他从事微生物学科研工作近 48 周年的卓越成就和他 70 岁寿辰,我们共同发起协助王书锦研究员,编写了《陆地—海洋微生物研究(理论·应用·新方法)》这本专著,以志纪念。本书的出版,体现了我国“土壤微生物研究”三代人科学研究成果和学术思想发展的一个侧面,对后来的科技工作者会有所启迪。

衷心祝愿我们的老师王书锦教授健康长寿,科学研究工作取得更多的成果,学术思想能够流传在国内外的微生物学界。

付海安	张立新	李忠伟	张红缨	邹 铨
谢秋宏	禹阿东	戚 波	孙大庆	李越中
吕群燕	徐 慧	胡江春	李建中	焦 鹏
张惟才	蒋宇扬	刘全永	薛德林	马成新
穆 军	刘戈飞	侯永敏		

2001 年元月 8 日

目 录

一、陆地—海洋微生物研究基础理论

新世纪中国土壤微生物学的展望	王书锦 胡江春 张宪武(3)
中国陆地—海洋微生物研究的展望	王书锦 胡江春 付海安 张立新 焦 鹏 张宪武(9)
三江平原低湿耕地土壤潜在肥力活化研究	 王书锦 薛德林 胡江春 李建中 靳宝初 夏元洵 翟崇高 杨敦启 王 伟 刘 军(16)
大豆连作障碍研究 I. 大豆连作土壤紫青霉菌的毒素作用研究	胡江春 王书锦(25)
大豆连作障碍研究 II. 大豆连作减产机理及对土壤紫青霉菌毒素的调控对策	 胡江春 薛德林 王书锦(30)
大豆连作障碍研究 III. 海洋放线菌 MB—97 促进连作大豆增产机理	 胡江春 薛德林 王书锦 何 斌 王德明(36)
Symbiotic Nitrogen Fixation Resources: A Study on <i>Sinorhizobium fredii</i> and <i>Bradyrhizobium japonicum</i> and Their applications	王书锦 蔺继尚 薛德林 戚 波 许广铭 张宪武(42)
<i>Streptomyces roseoflavus</i> as a plant growth promoting rhizobacteria	 胡江春 薛德林 王书锦(50)
Use of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> to Select Diphtheria Toxin A - Chain Mutants with Drastically Reduced ADP - ribosyltransferase Activity	付海安等(51)
Suppression of apoptosis signal - regulating kinase 1 - induced cell death by 14 - 3 - 3 proteins	 张立新 付海安等(63)
Apaf - 1, a Human protein Homologous to <i>C. elegans</i> CED - 4, Participates in Cytochrome c - Dependent Activation of Caspase - 3	 邹 桦等(71)
蛋白质工程新策略酶的体外定向进化	张红缨 孔祥铎 张 今(85)
土壤无色杆菌(<i>Achromobacter lyticus</i> M497 - 1)蛋白酶 I 底物专一性分子机制的研究	 张红缨 张 今 崎山文夫 王书锦(89)
杉木人工林根桩分解过程中的土壤微生物动态变化	韩桂云 葛英华 汪思龙 赵振英(92)
海洋微生物研究动态	 王书锦 焦炳华 胡江春 刘全永 杨惠平 李越中 穆 军 马成新 薛德林(98)
海洋微生物是创新药物的重要资源	 王书锦 胡江春 焦炳华 穆 军 马成新 薛德林 王洪钟 张荣庆(106)
海洋微生物的种类	 胡江春 王书锦 焦炳华 谢秋宏 刘全永 杨惠平 马成新 薛德林 穆 军(110)
大豆根瘤菌及其应用的研究	王书锦 段俊英 吴尧夫 许光辉 张宪武(130)
放线菌共生固氮的研究	丁 鉴 张忠泽(137)
中国黄、渤海、辽宁近海地区海洋微生物资源的研究	 王书锦 胡江春 薛德林 马成新 谢秋宏 刘全永(143)

中国野大豆及其共生的快生型大豆根瘤菌研究	王书锦 付沛云 蔺继尚 薛德林 戚波 李忠伟 许广铭 张宪武 吴岗梵 张仁双 付连舜(148)
电离辐射(γ -射线)对自生固氮菌(<i>Azotobacter</i>)生理活性影响的研究	王书锦 王子芳(153)
刺槐林下菌根真菌资源的调查、分离及回接.....	田春杰 何兴元 韩桂云 吴清风(159)
辽宁省仙人洞国家自然保护区土壤微生物调查研究	胡江春 薛德林 马成新 王书锦(164)
林业可持续发展中土壤微生物的作用及其应用前景	李廷茂 胡江春 汪思龙 王书锦(169)

二、陆地—海洋微生物应用及资源开发利用

植物根际促生菌(PGPR)的研究与应用	胡江春 薛德林 马成新 王书锦(177)
农业生态系统中根际微生物功能及其对作物生长的影响	韩静淑 王书锦 蔺继尚(181)
海洋放线菌 MB—97 的生物学特性及其微生物学鉴定	胡江春 张俊 薛德林 马成新 王书锦(187)
海洋放线菌 MB—98 的分类鉴定	马成新 胡江春 薛德林 刘全永 王书锦(191)
海绵微生物生物活性物质的研究进展	刘丽 胡江春 王书锦(194)
辽宁沿海中国对虾常见病多发病原菌及防治	王书锦 国际翔 薛德林 王丽霞 丁彦怀 刘戈飞(199)
对虾杆状病毒感染螃蟹组织的电镜观察	国际翔 王丽霞 李文清 刘丹 薛德林 胡江春 王书锦(202)
无外膜杆状病原体在虾体内发生的形态观察	国际翔 王丽霞 李文清 刘丹 薛德林 李忠伟 张立新 许广铭 王书锦(205)
侵染中国对虾鳃组织的球状病原体的电镜观察	国际翔 王丽霞 李文清 刘丹 薛德林 李忠伟 张立新 许广铭 王书锦(207)
海绵微生物研究进展.....	张海涛 李萌 张卫 虞星炬 金美芳 胡江春 王书锦(209)
海洋微生物的生态分布研究.....	王书锦 胡江春 焦炳华 薛德林 马成新 谢秋宏 刘全永 李越中 穆军(215)
海洋微生物资源及其产生生物活性代谢产物的研究	李越中 陈琦(222)
光合细菌 N 9281 生物学特性及其应用	薛德林 王伟 胡江春 刘军 王书锦(226)
四种外生菌根真菌培养特性的研究.....	田春杰 何兴元 吴清风 韩桂云 周玉芝(230)
<i>Arthrobacter</i> K1108 产乙内酰胺酶条件的研究.....	张惟材 郝淑凤 袁红杰 彭清忠 朱厚础 黄留玉 王书锦(234)
渤海水母体细菌的微生态分布及弧菌生物学特性	刘全永 胡江春 马成新 薛德林 王书锦(239)
热带假丝酵母转化烷烃过程中 P450 酶活的研究.....	焦鹏 华玉涛 李书良 黄英明 曹竹安(243)
<i>Frankia</i> 纯培养的无细胞抽提液固氮	禹阿东 陈冠雄(247)
Nisin 高产菌株 <i>Streptococcus lactis</i> 21 的选育.....	宁喜斌 薛景珍 王书锦(248)
应用单克隆抗体 ND-1 进行人结直肠癌诊断的实用化研究	刘戈飞 王芸庆(251)
Tetrodotoxin producing <i>Bacillus sphaericus</i> from Chinese <i>Fugu rubripes</i>	刘全永 胡江春 王书锦 马原栋 张荣庆(254)
Purification and properties of the pyrophosphate - dependent phosphofructokinase from <i>Dictyoglomus thermophilum</i> RT 46 B.1	丁彦怀等(261)

The Role of Individual Exoribonucleases in Processing at the 3' End of <i>Escherichia coli</i> tRNA Precursors	李忠伟等(270)
--	-----------

三、陆地—海洋微生物研究新方法、新技术及其产业化

海洋微生物研究方法	
..... 王书锦 胡江春 王洪钟 李越中 焦炳华 杨惠平 刘全永 马成新 薛德林 穆 军(287)	
固定化酵母酒精发酵过程中杂菌污染防治的研究	许苏葵 何秀良 王书锦(323)
海洋微生物中具有引起稻瘟霉(<i>pyricularia oryzae</i>)孢子形态变异活性的菌株筛选	
..... 李 渤 王乃利 姚新生 胡江春 王书锦(327)	
海洋细菌抗菌活性的二剂量测定方法	马成新 张家辉 胡江春 薛德林 王书锦(331)
微生物分子生态学技术及其在环境污染研究中的应用	钟 鸣 周启星(333)
海洋细菌 THB306 的 16SrDNA 序列分析及其发酵产物理化生物学特性	
..... 马原栋 刘全永 胡江春 王书锦 张荣庆(339)	
海绵细菌 B25W 的分离鉴定及其抑菌活性研究	
..... 马成新 李 枫 胡江春 薛德林 刘 丽 王书锦(344)	
海洋细菌 9912 肽抗生素发酵条件优化研究	
..... 王 烈 胡江春 马成新 薛德林 王书锦 张仲良 张春发 李晓茹 张习伟 李春田(349)	
繁茂膜海绵中两株放线菌的生物学特性及其鉴定	刘 丽 胡江春 王书锦(354)
花生—根瘤菌配对选优及其增产效果研究	薛德林 王书锦 王福录 杨惠文(358)
光合细菌 N9281 在家禽饲养与池塘养鱼中的应用	
..... 薛德林 刘 军 胡江春 谭国相 王书锦(362)	
海洋细菌 BAC—9912 的鉴定及其抗菌特性	
..... 胡江春 薛德林 马成新 王 烈 刘 丽 王书锦(365)	
海洋细菌 9912 生物制剂的制备及其应用效果	
..... 薛德林 魏建平 胡江春 刘 军 马成新 萧宏亮 王书锦(370)	
微生物有机肥料的研制生产及其应用	
..... 薛德林 胡江春 马成新 王 伟 佟振轩 金国龙 隋国斌 丁庆堂 王书锦(374)	
《289》蛋白酶活性测定方法	李凤珍 苏凤岩 王学聘 王书锦(379)
大豆连作土壤多酚氧化酶的测定方法	马成新 胡江春 王书锦(382)
环境中基因工程微生物监测及计数方法概述	新素英 张成刚 吕淑霞(383)
用 REP-PCR DNA 指纹鉴别 <i>Frankia</i> 菌	彭源东 张忠泽 丁 鉴(387)
含有第二固氮酶系的棕色固氮菌突变株的构建	吕群燕 戴祥鹏 段俊英 刘纯强(391)
杉木连栽土壤产毒真菌及其真菌毒素的检测	李延茂 胡江春 王书锦(392)
海洋细菌 B-02 抗生素对白念珠菌、隐球酵母菌病原菌的抑制作用	
..... 马成新 刘全永 胡江春 薛德林 王书锦(394)	
含有萤火虫荧光素酶基因片断的两株新型工程菌株的构建	蒋宇杨 金振华 王书锦(398)

四、附录

微生物常用培养基	(411)
----------------	-------



陆地—海洋微生物研究 基础理论

新世纪中国土壤微生物学的展望

王书锦 胡江春 张宪武

(中国科学院沈阳应用生态研究所 沈阳 110016)

摘要:本文从土壤微生物生态和资源开发利用,根际微生物,生物固氮,菌根及内生真菌,土壤生物化学,环境污染防治及生物净化微生物,土壤微生物多样性和应用现代生物技术手段实现土壤微生物资源、陆地—海洋微生物资源的生理活性物质的开发研究及其产业化等8个方面,阐述了我国土壤微生物研究成就、今后在这一领域的研究和发展及推动微生物生物技术的产业化方面的设想和看法。

关键词:新世纪 土壤微生物学 展望

1 前言

新中国成立以后,我国土壤微生物研究工作迅速地开展起来了。现已拥有一支相当大的具有一定水平的科技队伍,并在一些基础理论研究方面和生产实践上,都做出了一定的贡献。但是,我们过去的一些成就还远远不能满足国民经济建设和科学技术发展的要求,更缺乏创造性的科研成果。新世纪应很好地把科技力量组织起来,鼓足干劲和信心,迎接新的机遇和挑战,以面向国民经济发展需要主战场为己任,在加强应用研究的同时,重视应用基础、基础理论研究和高新技术研究。这样在立足于解决生产问题、实现高新技术产业化的同时也为科技和生产的发展提供储备指导力量,为不断提高科学技术研究水平,推进我国社会主义现代化建设发挥应有的作用。

2 展望

要实现新世纪生物科学发展目标,必须首先看到现代生物技术较传统生物技术研究已发生了重大变化,也必须看到我们已取得成就的基础,有所为有所不为,特别是今后需要择优发扬光大的一面。土壤微生物学根据学科的发展远景和客观的需要,应该在以下几个中心问题深入研究,并加强开发利用及其产业化。我们深信,加强我们的科技责任感、使命感,瞄准国际先进水平,结合我国实际需要,努力创新,积极奋斗,那么新世纪中国土壤微生物学发展的前景将是美好的。

2.1 土壤微生物生态、扩大资源来源和资源开发利用研究

在这方面今后仍应继续进行土壤微生物生态研究、扩大土壤微生物资源开发利用的研究和土壤微生物资源开发应用基础理论的研究^[1]。在土壤微生物生态研究中要加强对微生物系统发育分类学上创新进展的研究,应用 rRNA 技术对土壤微生物分子生态学进行研究^[14]。用 Biolog 方法技术对土壤微生物代谢功能多样性进行研究。在扩大土壤微生物资源的研究过程中,要结合人类所需的目的,建立创新性的专项筛选模型,研制开发新型生物有机肥、生物农药、生物饲料和兽医用药新产品及其产业化。随着近年来生态农业的发展和可持续发展的需要,开展土壤微生物资源生态学、分子生态学、生物信息学、转基因植物的土壤微生物安全性指标及基因工程菌使用的风险评价等的基础理论研究,也是十分必要的。此外,还可以重点考

虑土壤微生物多样性与生态稳定的相关性研究,土壤微生物群落结构演替规律和影响演替的动力基础等等,1997年以来我国胡水金教授和美国专家共同提出了:“资源(尤其是碳源)的有效性可能是土壤微生物群落演替和最重要影响因素”和科学分析^[2,7],开展了很多方面创新的研究工作,受到国内外同行的关注。

2.2 根际微生物的研究

根际是植物、土壤和微生物三者之间相互影响较深刻的地区,根际是土壤微生物活动的一个特殊生态环境。近年来,生物有机肥的生产与应用,促进了根际土壤微生物积极活动,肥力提高,从而使农作物获得增产。近年来在根际微生物的研究方面已预示一个新的发展趋势,如对根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria,简称:PGPR)的研究,已成为研究的热点,经常召开国际学术讨论会。由于PGPR能够促进植物的生长,防治作物病害,增加作物产量,受到人们的普遍重视。近年来科学家已加深对根际微生物群落动力学的研究,根际微生物相互关系的研究和PGPR作用机制的研究,普遍认为PGPR在根际定居(或定殖)是十分重要的,如果在根际环境中不能定居,即使在实验室对病原菌有拮抗作用,那么在田间对作物却没有真正的生物防治价值^[16],中国科学院沈阳应用生态研究所近年来有关“大豆根际微生物DRMO和PGPR的研究”结果证明,这方面的科研工作有进一步发展的前景。

2.3 生物固氮研究

地球上每年由生物固定的氮约 $175 \times 10^6 \text{t}$,其中在农田中固定的氮约为 $90 \times 10^6 \text{t}$ 。种子豆科植物和豆科牧草每年固定为 $80 \times 10^6 \text{t}$ 氮,其中种子植物固定的氮约占46%,为 $36 \times 10^6 \text{t}$,接近世界工业合成氮肥量($40 \times 10^6 \text{t}$)。

生物固氮的潜力很大,具有巨大的农林业可持续发展和生态价值,是全球氮循环的主要贡献者,与人类生存今后粮食供应关系十分密切,因此已得到全世界科学家和政府机构的极大重视和支持。过去我国在这方面已做了大量的和广泛的工作,在生产实践上和基础理论方面都取得了不少显著的成果。今后应继续深入开发固氮微生物新资源,寻找新的固氮微生物和能应用于主要作物、绿肥、饲料牧草和林木等的各种类型高效率的固氮系;深入从生物学、化学和分子生物学等方面来阐明各种类型固氮体系的固氮过程和机理,为化学模拟生物固氮,创造新型高效的合成氨催化剂提供模式,应用现代遗传学技术和农业微生物基因工程等创造新的固氮微生物个体和共生固氮体系,选育固氮效率高的共生体系,高光效高固氮大豆共生固氮体系,提高我国大豆产量、发展豆科绿肥、改善土壤肥力和生态环境。总的目的是以生物固氮为基础,运用生物工程技术,结合传统农业技术的精华,综合调控来提高我国农、林、牧、渔业的生产力和生物固氮研究的科学水平。高效生物固氮机理研究及其应用,仍然是新世纪生物固氮研究的重要方向和热点。

今后需要因地制宜地重点研究的内容有:豆科植物与根瘤菌共生固氮;非豆科树木Frankia结瘤共生固氮;固氮兰绿藻及共生兰绿藻固氮绿肥;高效生物固氮机理与生物固氮遗传学研究。

2.4 高等植物菌根及内生真菌的研究

菌根是一些高等植物根系与真菌的共生联合。菌根主要分为外生菌根(ectotrophic mycorrhiza)和内生菌根(endotrophic mycorrhiza)两种。此外还有外生内生双方向特征的内外生菌根(ectendotrophic mycorrhiza)以及拟菌根(pseudomycorrhiza)、周生菌根(peretrophic mycorrhiza)等等。外生菌根主要形成于针叶树和阔叶树上,这些树木都是构成森林的主要树种,大约有300多种担子菌的多数种、子囊菌、半知菌的一部分参与外生菌根的形成。近十年来

中科院沈阳生态所在我国南方,对马尾松及红栲幼苗,用人工接种外生菌根菌剂,促生长效果很好。内生菌根在苹果、柑橘、葡萄、玉米、小麦、大豆等根部广泛存在,极大部分都是担子菌,主要提供植物的碳源营养和加强对磷素的吸收,它的应用,近年来才开始重视,在我国北京、西北、东北地区及台湾等,对丛枝菌根的菌剂研制与应用有所发展,在草莓、西瓜等已取得较好的增产效果,目前主要以应用摩西球囊霉内生菌根真菌(*Glomus mosseae*)为多。

关于高等植物内生真菌的研究,自1971年Wani等人从短叶红豆杉(*Taxus breifolia* Nutt)的树皮中提取出紫杉醇(Taxol),并发现其有抗癌作用以来,很多人开始探索在树皮中是否有产生紫杉醇的内生真菌存在。于1993年Stierle及Strobel首次报道了从太平洋紫杉树中分离得到一种可产紫杉醇的内生真菌(*Taxomyces andreanae*),其Taxol的含量为24~50ng/L。为人们提出了一条运用微生物发酵生产紫杉醇的新途径。1996年,Strobel等人又报道了从红豆杉树分离得到多种可产生紫杉醇的内生真菌(产量为108ng/L)。我国周东坡等人于2001年报道在1993年从东北红豆杉树(*Taxus cuspidate sieb. et zuce*)的枝条及树皮中获得产紫杉醇的内生真菌,发酵培养后可产紫杉醇51.06~125.7 μ g/L^[10],为高等植物内生真菌的开发利用指出了新的方向。此外,如我国的灵芝(最常见的为赤芝 *Ganoderma lucidum* 和紫芝 *G. sinensis*)、冬虫夏草(*Conrdycwps sinensis*)、各种食用菌等的开发研究与产业化,与人类所需密切相关。

2.5 土壤生物化学研究

主要是研究土壤微生物参与土壤中物质转化及能量流动生物化学反应的生态过程,它们参加的重要生物化学反应的生态过程有:有机化合物、高等植物和微生物残体的水解(降解或酶解),以及转化成为植物可利用的形态,生物固氮作用,腐殖质分解与合成作用,磷、硫、铁及其他元素转化和氧化还原反应以及地球上的碳循环、氮循环及磷、硫循环等等^[1,8]。所有生物化学过程都是通过酶的催化作用完成的。土壤酶是土壤生物化学反应的重要指标之一,土壤中许多重要的物理、化学、生物化学、团粒结构、土壤有机质、腐殖质、胡敏酸及微生物活性物质,都与土壤酶之间有着密切的相关性。土壤酶在过去40多年的研究,已积累了不少宝贵的资料。土壤酶的来源已基本搞清楚。利用土壤酶学技术使农业增产,例如中科院生态所的长效尿素、长效碳铵的科研成果,即尿酶抑制剂(也称:肥隆)的生产和应用,提高了尿素肥料在土壤中的利用率,如既减少了土壤中 N_2O 的排放,又可使水稻增产10%~15%,而引起人们的重视。近年来,人们发现主要由于人类活动的影响,地球的生态环境正在遭受破坏,在过去的100年内,大气 CO_2 的浓度增加了约25%,平均气温上升约0.3~0.6 $^{\circ}C$,将对陆地生态系统产生严重的后果。最近,研究全球气候变暖,大气 CO_2 的浓度上升的土壤微生物及土壤生物化学的反馈机制已成为今日土壤微生物学研究的热点之一。

2.6 环境污染防治及生物净化微生物的研究

应用土壤微生物来研究环境的污染及其防治,已引起世界各国的极大重视。

生物净化技术在被石油污染的水及土地等方面的应用已取得了显著的成就。目前,世界各国已经形成了一套行之有效的治理城市污水的处理流程,其核心是应用微生物或酶制剂来降解有机污染物,以及探索诸多领域中保护环境的途径,如应用土壤微生物等生物技术对污染生态进行生态修复。中科院生态所利用固定化微生物降解土壤中菲和芘,以期开发出一条提高对土壤污染多环芳烃降解率的新途径^[17],取得了初步成功。

今后发展“绿色能源”,应用微生物发酵生产燃料乙醇,部分替代石油,减轻环境污染“十五”示范工程重大项目,我国已经启动。用燃料乙醇代替等量汽油可以降低汽车尾气有害物质

的排放,是我国转化余粮及农副产品,减少大气污染的重要举措。

加快开发研究新型高效、无毒生物农药,防治植物病虫害,减少化学农药污染,保护生态环境,也是土壤微生物研究今后重要课题内容。

2.7 土壤微生物多样性研究

土壤微生物多样性研究,是陆地生态系统多样性研究的重要组成部分。保持基本的生态过程和生命维持系统是人类赖以生存和发展的物质基础,生物多样性发展与保护研究,对保持地球上物种的多样性和生态系统永续利用具有重要意义^[1,7,8]。

当今世界已有很多物种灭绝,有的则已成为濒危物种,某些特殊土壤微生物,如与细长叶白花野大豆共生的快生型大豆根瘤菌种质资源,至 1990 年时全世界只有中国某地一份资源,而后也已被毁而绝灭。所幸其野大豆种质资源和其共生快生型大豆根瘤菌菌种资源于 1988 年已为中科院生态所所保藏,保护了这一珍贵资源的种子库与菌种的基因库。

生物多样性的下降是引起全球生态变化的重要因素,土壤微生物多样性与土壤生态稳定性密切相关,研究土壤微生物多样性,特别是应用分子生物学技术、基因水平上来研究土壤微生物多样性,如应用 RAPD(随机扩增多态性 DNA)分子生物技术检测、量度土壤微生物多样性^[4],以及 ARDRA(Amplified rDNA Restriction Analysis)和 16SrRNA 技术的应用等等,已成为当今世界上生态学研究的前沿领域之一^[6,13]。近年来,美国和我国学者的研究结果都证明,丰富的土壤微生物多样性可以降低土壤中传播植物病害的发生,研究了解土壤微生物多样性和土壤中病原微生物的关系,有利于筛选能适应于土壤生态环境下所需要的生物农药^[2,3,5]和 PGPR 的应用研究。

国内外土壤微生物多样性最新研究结果还表明,过度依赖化肥和化学农药使用,以及单一作物连作的结果(如大豆重茬),将影响土壤微生物结构与功能的改变,给农田生态系统带来了不稳定性^[3]。合理施用高效优质生物有机肥、高效优质生物制剂、重视轮作、间种和合理的耕作制度等以发展生态农业,保持土壤微生物多样性的稳定,有利于土壤肥力的合理利用,促进农业的增产^[9]。

2.8 应用现代生物技术手段,实现土壤微生物资源、陆地—海洋微生物资源生理活性物质的开发研究及其产业化

新世纪的钟声已经敲响,人类已经进入了 21 世纪,要实现新世纪生物科学发展的目标,必须首先看到生物资源与生物技术研究已经发生了重大变化。一是向微观研究发展更加深化,例如随着人类基因组计划序列分析工作的完成,这些基因序列的解析、功能研究及应用开发形成知识产权自主的创新产品,将成为新世纪竞争焦点;二是向宏观研究发展更加纵深广阔,例如生物信息学是基于微观研究的宏观综合,地学研究从地球表面土壤的分区域研究(如分红壤地区、黄土高原、黑土地区以及分省分国家方式等)向深广发展,向全球方向发展,从陆地到海洋(甚至谁先占领月球、火星等),争夺发现和开发海洋新资源宝库。

由于从土壤中寻找微生物新资源愈来愈困难,而海洋生物资源是陆地上的十倍,并且尚未很好开发,因此土壤微生物资源的开发研究,也逐步发展扩大到陆地—海洋微生物资源的研究、开发利用及其产业化^[11,15]。最近大量研究结果表明,土壤微生物、陆地微生物、海洋微生物既有各自特点,又有十分密切相互关系,有的是同一属种,由于自然变迁后,生态环境长时期不一样,其代谢产物也不相同;有的土壤微生物只要给予特殊条件,也可以产生在海洋中产生的代谢活性物质^[12,15,18]。新世纪寻找微生物新资源实现产业化研究的重点,将可能是:

(1)极端环境下土壤微生物资源开发利用(如盐碱土、火山土、盐湖、温泉、天池等);

(2)极限环境下陆地微生物资源开发利用(如新生代以前的海相残留盆地岩层,2001年起日本已经启动)与高等植物共生、共存的内生真菌等陆地微生物资源(如红豆杉树皮内生真菌,产紫杉醇活性物质)的开发利用^[10];

(3)海洋微生物资源的开发利用(包括与海洋生物共生、共栖的微生物资源的生物活性物质,如河豚鱼卵巢、肝脏中共存或共栖微生物产生 TTX 毒素);海洋中生活着大量的种类繁多的生物,各种类型的海洋微生物,能产生各种类型的生物活性物质,很多活性物质具有非常独特的功能,有的活性物质在土壤里、陆地上是难以找到的^[12],例如有的海洋微生物具有将光能转化为有机能的光敏色素,在深海中对能源的循环产生极大的影响。因此,人们纷纷把目光投向海洋,希望从海洋微生物的研究开发中获得人类所需要的新型海洋微生物制剂,而成为近年来国内外研究的热点;

(4)土壤微生物及海洋微生物基因组计划与网络时代的微生物资源生物信息库(后功能基因、基因组工程及蛋白质组工程)研究,建立以遗传基因为基础的,生物信息学为先导的、有我国资源特色和自主知识产权的微生物产业;

(5)微生物资源生理活性物质筛选新模型,新靶标研究(如生物芯片等);

(6)应用现代生物技术实现土壤微生物科技成果产业化转化规律及产业化新工艺、新技术、新产品研究;例如开发研制出新的绿色环保纳米技术 PGPR 缓释生物药肥、新的生物有机肥、新的生物农药、新的生物兽药、新的生物医药、新的“绿色能源”、新型环保酶制剂、新型环保微生物固定化细胞、生物制剂以及农产品加工的微生物产业等等。

3 结 语

综合上面 8 个中心问题的论述,我们对中国土壤微生物学今后的展望,是乐观的,已有继承精华、发扬光大,还有所前进,因为我国土壤微生物研究科技队伍已经发展壮大,科研工作已有很好基础,科学水平大有提高,后继有人,人才辈出,必然会为土壤微生物学的发展与创新,承担起新世纪所赋予的伟大而艰巨的任务,而做出自己应有的贡献。

参 考 文 献

- 1 张宪武.土壤微生物研究(理论·应用·新方法)[M].沈阳:沈阳出版社,1993
- 2 Hu. S and A. H. C. Van Bruggen: Microbial dynamics associated with multiphasic decomposition of ¹⁴C - labeled in soil[J]. Microbial Ecology, 1997, 33, 134~143
- 3 胡江春,薛德林,王书锦.大豆连作障碍研究Ⅱ.大豆连作减产机理及对土壤紫青霉菌毒素的调控对策[J].应用生态学报,1998,9(4):429~434
- 4 吴少慧等.RAPD 技术在微生物生物多样性鉴定中的应用[J].微生物学杂志,2000,20(3):44~47
- 5 杨永华等.农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响[J].微生物杂志,2000,20(3):23~25
- 6 彭源东,张忠泽.Frankia 菌的遗传多样性的 RAPD 研究[J].应用生态学报,1998,9(1):59~63
- 7 Hu. S. F. S. Chapin. 111, M. K. Firestone, C. B. Field and N. R. Chiariello: Nitrogen limitation of microbial decomposition in a grass land under elevated CO₂. [J]. Nature, 2001, 409. 188~191
- 8 Dick R. P., Breakwall D. P. and Turco R. F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. [M]. In Doran J. W. et al., Methods for Assessing Soil Quality. 1996, 247~271
- 9 成田保三郎.连轮作土壤微生物区系[J].日本土壤肥料科学杂志,1982,53(1):11~14
- 10 周东坡,平文祥等.紫杉醇产生菌分离的研究[J].微生物学杂志,2001,21(1):18~19
- 11 王书锦,胡江春,马成新等.资源微生物遗传学研究及其在新世纪产业化前景[J].云南大学学报(自然科学版)

学版), 1999, 21: 10~13

- 12 李光友, 刘发义, 李元广等. 海洋生物活性物质研究与开发技术[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1999
- 13 Vaneechooutte, M. R. Roseau, et. Rapid identification of bacteria of the comamonadaceae with amplified ribosomal DNA - restriction analysis ARDRA[J]. FEMS Microbial. Lett, 1992, 93: 227~234
- 14 张晓君. 分子生态学方法在微生物多样性研究中的应用[J]. 微生物学通报, 1999, 26(1): 68~70
- 15 王书锦, 胡江春, 薛德林等. 中国黄、渤海辽宁近海地区海洋微生物资源的研究[J]. 锦州师范学院学报, 2001, 22(1): 1~5
- 16 陈晓斌, 张炳欣. 植物根围促生细菌(PGPR)作用机制的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(1): 38~41
- 17 王新, 李培军, 巩宗强等. 固定化微生物降解土壤中菲和芘的研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(4): 636~638
- 18 姜广策, 姚汝华, 林永成. 海洋半知类真菌次生代谢产物研究概况[J]. 微生物学杂志, 2001, Vol. 21 No3: 41~44

Prospect of Chinese Soil Microbiology in the New Century

Wang Shujin, Hu Jiangchun, Zhang Xianwu

(Institute of Applied Ecology, CAS, Shenyang, 110016)

Abstract: This article described the research achievements, future research and development as well as view of pushing microbial biotechnology forward, which are based on soil microbial ecology and resource development and utilization, biological nitrogen fixation, mycorrhiza and taxomyces andreanae, soil biochemistry, environmental pollution and purification, soil microbial diversity, and realizing development and industrialization of bioactive substances which are derived from soil microbial resource and terrestrial - marine microbial resource.

Keywords: New century, Soil microbiology, Prospect