

现代微生物 资源与应用探究

郝鲁江 / 著

微生物



中国水利水电出版社
www.waterpub.com.cn

现代微生物资源与应用探究

郝鲁江◎著



中国水利水电出版社
www.waterpub.com.cn

· 北京 ·

内 容 提 要

微生物是一个重要的资源库,开发潜力巨大,广泛应用于农业、工业、医药、食品及环保等各个领域。本书从微生物肥料、土壤微生物、微生物农药、海洋微生物以及工业微生物等方面来介绍微生物资源的应用,系统化、基础化、时代化、新颖化是本书的特点。

本书可作为生物学及相关专业本科学生的教材,也适合高等院校学生扩充知识面和了解学科前沿的需要,是一本对微生物较全面的应用介绍方面的书籍。

图书在版编目(CIP)数据

现代微生物资源与应用探究 / 郝鲁江著. -- 北京 :
中国水利水电出版社, 2018.7
ISBN 978-7-5170-6611-8

I. ①现… II. ①郝… III. ①微生物—生物资源—研究 IV. ①Q938

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第149044号

责任编辑:陈 洁

封面设计:王 伟

书 名	现代微生物资源与应用探究 XIANDAI WEISHENGWU ZIYUAN YU YINGYONG TANJIU
作 者	郝鲁江 著
出版发行	中国水利水电出版社 (北京市海淀区玉渊潭南路1号D座 100038) 网址:www.waterpub.com.cn E-mail:mchannel@263.net(万水) sales@waterpub.com.cn 电话:(010)68367658(营销中心)、82562819(万水)
经 售	全国各地新华书店和相关出版物销售网点
排 版	北京万水电子信息有限公司
印 刷	三河市同力彩印有限公司
规 格	170mm×240mm 16开本 12.5印张 234千字
版 次	2018年8月第1版 2018年8月第1次印刷
印 数	0001—2000册
定 价	50.00元

凡购买我社图书,如有缺页、倒页、脱页的,本社营销中心负责调换

版权所有·侵权必究

前 言

微生物是地球生态系统中最重要分解者,也是开发潜力很大的资源库。微生物在无公害产品的生产开发、污染物的降解、资源的再生利用、生态环境的保护等方面都发挥着重要作用。当今人类所面临的诸如环境污染、资源短缺、生态破坏、健康危害等许多重大问题,都有可能从微生物资源的开发研究中找到解决方法,它将对人类社会的持续发展产生重要影响。正因为如此,发达国家自20世纪80年代以来在环境有益微生物的开发与应用研究领域投入了大量的人力、物力,并且取得了许多成果。发达国家在微生物技术的产品化、产业化方面的发展也十分迅速,取得了巨大的经济、环境和社会效益。

本书主要研究的是微生物资源的种类和分布、微生物资源与环境的关系,以及资源的合理开发、应用和有效保护等。它既与微生物学、生物化学、分子生物学、发酵工程学相关,又与生态学、生物统计学、环境生物学等多门现代生物科学相关,是一门新兴学科。

全书共六章,各章均有基础理论、基本概念和应用研究等内容。本书主要内容包括:现代微生物资源基础理论探究、微生物肥料在生态农业工程建设中的作用、土壤微生物资源的管理与应用技术、微生物农药的研究与应用的新进展、海洋微生物资源的开发与应用研究、工业微生物的研究与工程应用等。本书旨在介绍微生物丰富的资源、广泛的应用和巨大的开发价值,拓宽读者的知识面,提高读者应用知识解决实际问题的能力,让读者对与自己紧密联系的生活常识和环境能在理论和实践上有科学的认识,以便更好地保护我们的生存环境和提高自身的生活质量。

本书语言上深入浅出,内容上通俗易懂,科学性强,是一本可供研究院所、高等院校师生参考的学术著作。但由于撰写时间仓促以及作者水平与经验不足等原因,本书可能存在不妥之处,敬请同行与广大读者给予谅解并指正。

本书的出版得到了齐鲁工业大学 2016 年专业核心课程(群)项目:《生物技术专业核心课程群》(项目代码:2016H07)的资助,在此谢过。

齐鲁工业大学(山东省科学院)

郝鲁江

2018 年 1 月

目 录

前言

第一章 现代微生物资源基础理论探究	(1)
第一节 微生物资源的定义	(1)
第二节 微生物资源的种类与分布	(1)
第三节 微生物资源的开发与利用简述	(7)
第二章 微生物肥料在生态农业工程建设中的作用	(8)
第一节 生态农业的兴起	(8)
第二节 复合微生物肥料的研发	(9)
第三节 复合微生物肥料的施用	(19)
第四节 堆肥化过程中的微生物学	(43)
第五节 复合微生物肥料研究和应用中存在的问题及对策	(49)
第三章 土壤微生物资源的管理与应用技术	(55)
第一节 土壤微生物的分布	(55)
第二节 土壤微生物在生态系统物质循环中的作用	(59)
第三节 微生物在污染土壤生态修复中的应用技术	(69)
第四章 微生物农药的研究与应用的新进展	(82)
第一节 生物农药的种类与性质	(82)
第二节 杀虫微生物的研究与应用	(85)
第三节 抗病微生物的研究及应用前景	(99)
第四节 除草微生物农药的研发与应用	(100)
第五章 海洋微生物资源的开发与应用研究	(108)
第一节 海洋微生物及其研究意义	(108)

第二节	海洋微生物的附着生长	(109)
第三节	海洋微生物腐蚀机理及研究方法	(111)
第四节	有益菌在海水养殖中的应用	(122)
第五节	海洋防污涂料的应用	(124)
第六章	工业微生物的研究与工程应用	(133)
第一节	工业微生物优良菌种的选育	(133)
第二节	微生物发酵工艺原理	(143)
第三节	工业微生物的生产工程实例	(173)
参考文献		(190)

第一章 现代微生物资源基础理论探究

进入到 21 世纪以后,全球资源环境问题日益尖锐,寻求可持续发展道路迫在眉睫。要实现我国在 21 世纪中叶人均国民生产总值达到中等发达国家水平的第三步战略目标,关键在于保证自然资源的可持续供给和生态环境的良性循环。

第一节 微生物资源的定义

微生物资源首先是指微生物本身的资源,有些微生物自身能够发酵产生生理性物质,如细菌、放射菌、酵母菌、霉菌等,如图 1-1 所示;其次是指微生物发酵工厂的下脚料——废渣、废水等。微生物资源是一类现实和潜在用途很大的可再生资源,不仅在维持生态平衡方面发挥了巨大作用,而且广泛应用于农业、工业、医药、食品及环保等各个领域。当今微生物生产已与动植物生产并列成为生物产业的三大支柱之一。

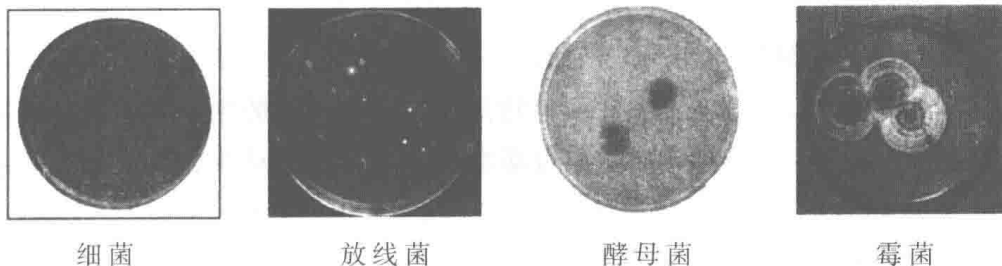


图 1-1 四大类微生物菌落特征比较

第二节 微生物资源的种类与分布

一、对微生物的认识

微生物是一类天然资源。自从有了人类,人们就天天跟微生物打交道,但人类发现微生物的历史却较短,仅 300 多年而已。微生物的发现与显微镜

的发明密切相关。微生物与人类关系密切,它既能造福于人类也能给人类带来毁灭性的灾难。

微生物的形体极小,种源丰富,代谢类型极其多样,生长繁殖速度惊人。在动植物不可能生长的地方都有微生物分布,作为一类资源,它既可提供极为多样化的产品,又适于在人工控制条件下进行大规模生产,而不受气候等因素的影响。

微生物资源的开发潜力大,生产性能优越,应用前景广阔。微生物既可看作是光合能量的初级固定者,也可看作是引发所有天然和合成有机分子产生化学变化的系统。微生物产品覆盖制药、农业、食品、化学、化妆品、环境、能源等许多领域,具有巨大的商业价值和社会效益。

二、微生物资源的特性

微生物是地球上最古老的生物之一,没有微生物的存在,地球上的生命将不复存在。虽然微生物在为人类提供了大量的未开发资源方面起着重要的作用,但是它们中的一些成员又是人类的天敌,如鼠疫杆菌、霍乱弧菌等。人类的干扰虽然没有对微生物造成大幅度的影响,但是其中一些物种处于濒危状态,一些处于特殊生境的真菌物种已被其他种类取代。因此,人类对微生物资源的认识将对整个生物圈的保护有着非常重要的意义。

(一)物种多样性

生物多样性(biodiversity)是生物及其与环境形成的生态复合体以及与此相关的各种生态过程的总和,它包括数以千百万计的动物、植物、微生物和它们所拥有的基因以及它们与生存环境形成的复杂的生态系统。在生物多样性中,物种多样性是最基本的内容,掌握现存物种数及其分布状况是评价生物多样性的基础。

目前由于研究手段的限制,许多微生物不能分离培养,我们对这类微生物的了解仅仅只是皮毛。1992年 Bull 等根据全球不完全统计得到的数据见表 1-1。微生物的多样性为人类了解生命起源和生物进化提供了依据。美国、日本和欧洲微生物种株保有的基础情况见表 1-2。

表 1-1 地球上不同类群的微生物资源

类群	已知种	估计种	已知种占的比例/(%)
病毒	5 000	130 000	4
细菌	4 760	40 000	12
真菌	69 000	1 500 000	5
藻类	40 000	60 000	67

表 1-2 美国、欧洲、日本微生物种株保有数

国别	微生物种株保有数	DNA 解析比例/(%)
美国	约 71 000	60
欧洲	约 64 000	30
日本	约 8 000	10

(二) 代谢类型多样性

微生物的代谢多样性是其他生物不可比拟的。原核微生物具有多种多样的代谢方式和生理功能,可适应各种生态环境并以不同的生活方式与其他生物相互作用,构成了丰富多彩的生态体系。在物质转化过程中,细菌无论在元素的代谢还是产物的代谢过程中都具有多种多样的途径。例如,放线菌是重要的抗菌素生产菌,已有的 1 000 多种抗菌素中约 2/3 产自放线菌。真菌是生产工业酶制剂的主要资源。酵母菌是良好的食品与蛋白质的原料,如图 1-2 所示。

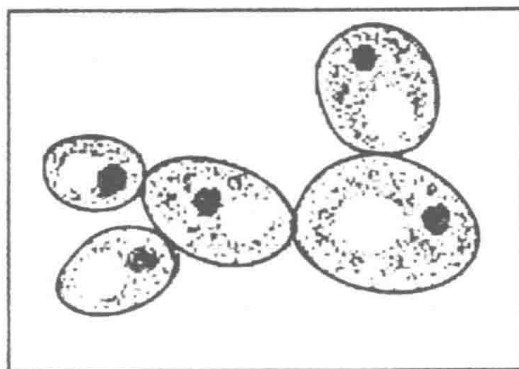


图 1-2 用于酿酒、制面包、单细胞生产的酵母菌

(三)生态系统多样性

地球上每一角落都是不同的微生物生态系统,按照大环境的不同可以将它们分为几类:陆生(土壤)微生物生态系统、水生微生物生态系统、大气微生物生态系统、根系微生物生态系统、人体生物微生态系统。这里重点介绍后两者。根系微生物离开了根系微生物系统就不可能生长繁殖,如菌根菌。研究根系微生物生态系统,对于保护和开发森林资源,提高牧草产量,提高农业粮食产量,甚至在环境污染治理方面都具有重要意义。人体的微生物生态系统则仅仅表现在人体体表及体内存在的微生物。皮肤表面平均每平方厘米有 10 万个细菌;口腔细菌种类超过 500 种;肠道微生物总量可达 100 亿个,粪便干重的 1/3 都是细菌,每克粪便的细菌总数为 1 000 亿个。

三、微生物资源的重点研究领域

(一)微生物分子生态学研究意义

微生物分子生态学研究微生物与环境之间的分子生态关系,体现了环境造就生物、生物改造和修饰环境的基本原理。其核心是外界环境因子对微生物产生的环境分子生态效应和微生物对环境适应的遗传分子生态效应。微生物在机体内环境的分子生态现象体现在它们之间的信息交流。

(二)利用现代生物技术改造菌种

深入了解微生物的组成结构、代谢过程、遗传表达等内容,可充分利用微生物资源。运用原生质融合技术和基因工程技术构建高效工程菌,为环境污染治理开辟了广阔前景。将降解污染物的质粒转入极端环境微生物中,具有很高的实际应用价值。另外,应用的安全问题一直是现代生物技术的重要障碍,尚需进一步完善解决。

(三)完善微生物环境保护应用技术

发展完善各种微生物环境保护应用技术都要以提高效率、降低成本为原则。从微生物的角度,分离、筛选和驯化高效降解菌,利用微生物共代谢作用、多菌种协同作用降解难降解污染物;从技术角度,开发实用新技术,进行传统技术改造,实现现代技术与传统技术的结合;从工艺角度,构建高效反应器,优化运行条件,探索新工艺、新方法等。

(四)微生物制剂的产业化

微生物制剂是利用微生物菌体、细胞组成成分或代谢产物制成的产品。在现代生物技术迅猛发展的今天,微生物制剂已渗透到人类社会的各个领域,从工业到农业,从医疗保健到环境保护,微生物制剂的应用领域日益扩大。目前最具市场应用前景的是有效微生物群制剂和微生物絮凝剂,菌体蛋白、酶制剂、微生物农药、微生物表面活性剂等也已产业化或正逐步实现产业化。

(五)极端微生物的研究

地球上存在着各种不同的、强烈抑制一般生物生长的极端环境(extreme-environment)。在极端环境中生长,并通常需要这种极端环境才能正常生长的微生物被统称为极端微生物。极端环境涵盖了物理极端(如温度、辐射、压力、磁场、空间、时间等)、化学极端(如干燥、盐度、酸碱度、重金属浓度、氧化还原电位等)和生物极端(如营养、种群密度、生物链因素等),如高温($200\sim 300\text{ }^{\circ}\text{C}$)、高盐($15\%\sim 20\%$ 或饱和盐溶液)、高酸($\text{pH}<1$)、高碱($\text{pH}>10$)、高压($>1.013\times 10^8\text{ Pa}$)、寡营养等。微生物适应异常环境是自然选择的结果。

四、微生物资源研究的基本方法

(一)单一菌种分离鉴定

1.样品采集

为了筛选到所需的某一种微生物,采样最好在富含该微生物特定营养基质的场所进行。例如,分泌纤维素酶和半纤维素酶的微生物,多数存在于森林土壤的枯枝落叶层、腐木以及农业堆肥中;在油田地区的土壤中,能利用碳氢化合物的微生物种类比较丰富;在盐碱土壤中容易分离到嗜盐微生物;在热泉中容易分离到嗜热微生物等。

(1)土壤采样。蔬菜地和耕作过的农田中,细菌和放线菌较多;在植物残体丰富的地方,如森林枯枝落叶层或某些沼泽土中,真菌数量较多;好氧微生物主要分布于通气好、水分含量适宜的土壤表层;厌氧微生物则存在于潮湿或积水的土壤中;细菌或放线菌在中性偏碱的土壤中居多;真菌则在偏酸的土壤中较为丰富。土壤植被对微生物群落结构和分布有很大影响。一般在豆科植物生长的土壤中,根瘤菌较多;在果园土壤中,酵母菌较多。细菌是土

壤微生物中数量最大、种类最多、功能多样的类群。土壤细菌以异养型和无芽孢细菌占优势,它们大都是中温型、需氧或兼性厌氧菌。在土壤的不同深度上,微生物的分布也呈现很大的差异:一般真菌多生活在地表层,细菌和放线菌可延伸到较深处生长。从含鸟粪的土壤中分离出了谷氨酸产生菌;庆大霉素产生菌意外地从湖底陈年沉积土中被发现;从生长着稀疏低矮小松树的酸性贫瘠土壤中获得了单环 β -内酰胺产生菌。

采样地点选好后,除去表土,取离地面 5~20 cm 深处的土样约 10 g,盛入事先灭过菌的牛皮纸袋等容器中,并记录样品编号、采集地点、时间等。若暂时不能分离使用,应置冰箱中保存。

(2)水体采样。采样点设在湖泊中心与沿岸的具有代表性的水域,在采集江、河、湖、水库等地表水时,可将采样瓶底部直接穿入水中距水面 10~15 cm 处,瓶口朝水流方向,使水样灌入瓶内。采好水样后迅速盖上瓶盖。在一定深度采水样时,可以用采水器。在采废水时,一般要在废水入口处,按一定距离及有代表性的出口地点分别设采样点;同时,还要在没有污染的上游水域采样选择作为对照。

(3)气体采样。空气中的微生物数量一般相当低,而且易受局部的冲击或气流活动的影响。空气样品采集有下面两种方法:①自然沉降法,即利用微生物气溶胶粒子受重力作用沉降到敞开的营养琼脂平板上,然后进行菌落计数;②使用过滤阻留式采样器,目前主要应用微孔滤膜采样器。

2. 纯化分离的应用

纯化分离在生产实践和科研工作中,一般都需要纯种微生物。通过富集培养,只能使需要分离的微生物在数量上占优势,提高筛选成功的概率,但其中目的菌株往往还可能是不纯的,因此需要进一步进行纯种分离。纯化分离的方法主要有平板划线分离法、稀释分离法和单细胞分离法等。

(二)群落微生物分析方法

近年来,现代分子生物学技术在微生物多样性研究上的应用克服了微生物培养技术的限制,能对样品进行较客观的分析,较精确地揭示微生物种类和遗传的多样性,即通过检测样品中微生物特定的 DNA 或 RNA 片段来判断某种微生物存在与否。自从 Muyzer 等首次报道了 16S rDNA 应用后,该技术已成为环境样品微生物多样性研究的重要工具。

第三节 微生物资源的开发与利用简述

我国在环境有益微生物开发研究中,虽已得到不少高效菌种,但无论是数量、质量还是高效菌种的应用技术,都远远跟不上实际的需求,跟国外也存在不少差距。获取高效菌种是开发应用环境有益微生物并进一步实现产业化的基础,是该领域研究和开发工作的源头,也是产业化发展的核心与关键。通过富集、筛选、纯化、诱变、基因重组、细胞融合等多种手段,建立环境有益微生物菌种库,不仅能使分散的资源 and 成果集中起来,有利于这些成果的完善、提高和更快地应用、推广,而且可以加大环境有益微生物资源开发的力度,加快高效菌种获取的速度,并有利于一菌多用或多菌组合等应用技术的开发,使菌种库成为资源库,成为该领域产业化发展的龙头。

第二章 微生物肥料在生态农业工程建设中的作用

肥料是农作物的“粮食”，在作物增产和农民增收中发挥着重要作用。但是若施用肥料不当，则会造成农产品的品质下降、耕地质量退化等不良现象。为了改善这一现象，微生物肥料由此产生。它具有增加肥效、减少化肥使用量、改良土壤结构等作用，具有较高经济效益、生态效益和社会效益。

第一节 生态农业的兴起

一、生态农业的基本概念

生态农业是一种小型农业，其生态上能自我维持、低输入，有经济活力，在环境、伦理道德、审美、人文社会等方面不引起大的或长远不可接受的变化。按资源科技和资源生态学定义，生态农业是遵循生态经济学原理和生态规律发展的农业生产模式。

二、国内外生态农业发展情况

(一)国外

1991年6月21日，欧盟颁发了《关于生态农业及相应农产品生产的规定》。该规定明确引导农民要自觉保护环境，并实行生态印章制度，改变生产经营方式，减少环境污染。

英国积极实施“永久农业”^①，注重本地能源与资源的循环，节省能源，耕种当地土地，监控当地环境，重视绿色构建及规划，重视社区发展及教育，积极发展当地经济。

美国推行精确农业。精确农业是质量效益型农业，以优质高效为目标，重视农产品的质量，追求以最少的投入获得优质的高产出和高效益。美国还积极推广应用喷灌、地面灌溉及滴灌等多种节水灌溉方式，真正做到了按需

^①所谓“永久农业”是指在节约资源和不破坏环境的基础上生产食物，其主要特征是通过元素的有效配置达到有利关系的最大化。

灌溉、精量灌溉。

所谓活力有机农业,简单地讲就是在整个农业生产过程中不使用化肥、农药、激素和转基因的农业生产方式。有机农业生产的方法已在奥地利得到普及,如在畜禽生产上,奶牛放牧,猪在干草上睡觉,饲料基本上都来自农场自身生产的有机物,禁止使用任何促进体重增加的化学物质和抗生物质。奥地利政府对有机农业积极扶持,对使用有机方法进行生产的农场与农户,不仅给以经济补贴,而且进行宣传,积极鼓励发展有机农业,有机农产品价格高于普通农产品。

(二)国内

随着人们的实践和经验积累,我国生态农业的复合系统不仅类型增加,而且功能和稳定性也逐步增强。目前我国重点研究和实施的生态农业系统主要有农林复合型模式、农牧渔综合种养型模式、农业生态恢复型以及畜禽粪便利用型模式等。其中畜禽粪便利用型最为主要,该模式是将畜禽粪便通过一定的技术处理实现资源化,在种植、养殖等之间进行循环利用,是农业可持续发展的重要保证。

第二节 复合微生物肥料的研究

复合微生物肥料(compound microdial fertilizers)是由特定微生物与营养物质复合而成,能提高农产品产量或改善农产品品质的活体微生物制品。其中的营养物质指的是有机肥料和无机肥料(化肥)。因此复合微生物肥料的生产原料包括微生物肥料、有机肥料、化肥三大部分和辅料。复合微生物肥料的生产工厂一般自行生产有机肥料和微生物肥料(菌剂),外购化肥和辅料,剂型分为颗粒剂、粉剂和液体。这里仅介绍前两种。

一、复合微生物肥料的标准剂型

(一)颗粒剂

颗粒剂采用挤压式造粒、圆盘造粒或转鼓造粒方式制造。其中,圆盘造粒或转鼓造粒的投资大、场地大、能耗大,但易于播撒,外观漂亮,商品性强,在造粒时烘干工艺中高温容易杀死菌剂中有益微生物,温度低又不容易烘干,其原工艺流程如图 2-1 所示。因此,温度控制十分重要。

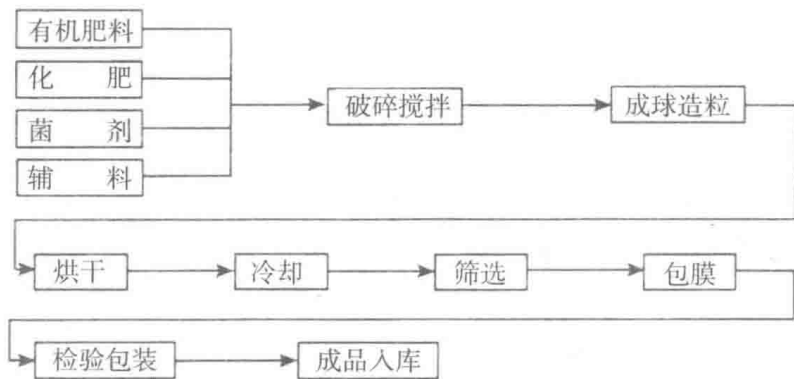


图 2-1 原工艺流程图

乌裁新等人研究出一种造粒后喷菌剂再包装的新工艺,以免菌剂中有益微生物在造粒时死亡。新工艺流程如图 2-2 所示。

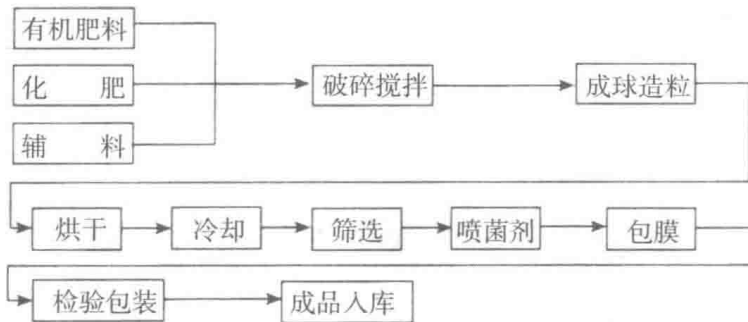


图 2-2 新工艺流程图

(二) 粉剂

粉剂的生产工艺是将有机肥料、化肥、辅料按比例投料,搅拌均匀装袋入库。粉剂产品应松散。粉剂由于生产工艺简单,投资较颗粒剂少,但商品性较差。

二、配方

(一) 颗粒剂配方

颗粒剂配方中包括有机肥、化肥、菌剂和膨润土四部分,有时在拌料时加入水。下面为三种配方及其计算。

1. 第一种配方

产品要求 $N + P_2O_5 + K_2O \geq 6.0\%$, 有机质不小于 15.0% , 有效活菌数不小于 12×10^7 个/g, 有效期 2 年。原料中有机肥检验结果为 $N 1.99\%$, $P_2O_5 4.98\%$, $K_2O 3.02\%$, 有机质 52.98% , 水分 17% , pH 值 7.9, 重金属离子含量符合要求。过磷酸钙中 $P_2O_5 \geq 12.0\%$, 钙镁磷肥中 $P_2O_5 \geq 12.0\%$ 。尿素中