

# 氢氧化细菌分离、筛选及促生机制研究进展

蒙渊<sup>1</sup> 王卫卫<sup>1\*</sup> 陈兴都<sup>1,2</sup> 熊本涛<sup>1</sup> 唐明<sup>3</sup>

(1. 西北大学生命科学学院 西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室 陕西 西安 710069)

(2. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院 陕西 西安 710055)

(3. 西北农林科技大学林学部 陕西 杨凌 712100)

**摘要:** 氢氧化细菌是一类以氢作为电子供体, 通过氧化 H<sub>2</sub> 获得能量并同化 CO<sub>2</sub> 的无机化能自养菌。近年来, 发现作为豆科作物根际主要生理类群的氢氧化细菌促生作用明显, 因而受到各国学者的广泛关注。氢氧化细菌在农业、环境保护和人类健康等领域有巨大的应用潜力。目前, 由于人们对氢氧化细菌的分类、分离和筛选技术的认识不足, 严重影响了氢氧化细菌的研究进程和水平。概述氢氧化细菌的分离及筛选方法, 并着重论述了氢氧化细菌促生作用及促生机理的最新研究进展, 最后探讨其应用前景。随着研究的深入, 氢氧化细菌将受到各国学者的广泛关注。

**关键词:** 氢氧化细菌, H<sub>2</sub>, 氢化酶, ACC 脱氢酶, 铁载体, 分离筛选, 促生机制

## Research Progress on Isolation, Screening and Plant Growth-promoting Mechanism of Hydrogen-oxidizing Bacteria

MENG Yuan<sup>1</sup> WANG Wei-Wei<sup>1\*</sup> CHEN Xing-Du<sup>1,2</sup> XIONG Ben-Tao<sup>1</sup>  
TANG Ming<sup>3</sup>

(1. Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China, Ministry of Education, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069, China)

(2. School of Environment and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an, Shaanxi 710055, China)

(3. College of Forest, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** Aerobic hydrogen-oxidizing bacteria can utilize H<sub>2</sub> as electron donor and O<sub>2</sub> as electron acceptor to fix CO<sub>2</sub>. Recently, it has been found that hydrogen-oxidizing bacteria, which are the main physiological groups in rhizosphere of leguminous crops, can promote the growth of plants obviously. Nowadays, great attention has been paid to this kind of bacteria. Hydrogen-oxidizing bacteria have great potential in agriculture, environment and human health. But it's not very clear about the classification, isolation and identification of hydrogen-oxidizing bacteria, and it has seriously affected the process of researches. This article presents an overview on the isolation, screening of hydrogen-oxidizing bacteria, focuses on plant growth-promoting mechanism and some other prospects of

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(No. 30630054); 陕西省自然科学基金项目(No. SJ0822T03); 西北大学研究生创新基金项目(No. 09YSY35)

\* 通讯作者: Tel: 86-29-88303534; Fax: 86-29-88303572; ✉ www.wang@nwu.edu.cn 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

收稿日期: 2010-04-12; 接受日期: 2010-06-12

their applications. As the further study, more and more researchers all over the world will pay more attention to this kind of bacteria.

**Keywords:** Hydrogen-oxidizing bacteria, H<sub>2</sub>, Hydrogenomonas, ACC deaminase, Siderophores, Isolation and characterization, Growth-promoting mechanism

20 世纪初, 科学家就发现土壤中 H<sub>2</sub> 消失的现象, 并通过实验证明 H<sub>2</sub> 的消失是由细菌引起的, 当时将该细菌命名为泛养芽孢杆菌(*Bacillus pantotrophus*), 后来又称为泛养单胞菌(*Hydrogenomonas pantotrophus*)<sup>[1]</sup>, 这种细菌将 H<sub>2</sub> 氧化为水, 从中获得能量来同化 CO<sub>2</sub> 合成细胞物质, 进行化能自养生活。它又称氢氧化细菌(Hydrogen-oxidizing bacteria), 即能够利用 H<sub>2</sub> 作为电子供体、O<sub>2</sub> 作为电子受体并同化 CO<sub>2</sub> 的一类无机化能自养细菌。氢氧化细菌能够利用 H<sub>2</sub> 是由于其含有氢化酶, 或者在一定的条件下能够表达或激活氢化酶, 从而在有 H<sub>2</sub> 提供的条件下能够利用 H<sub>2</sub>, 迅速大量繁殖群体数量<sup>[2]</sup>。目前已经报道的氢氧化细菌分属在假单胞菌属(*Pseudomonas*)、副球菌属(*Paracoccus*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、分支杆菌属(*Mycobacterium*)、产碱菌属(*Alcaligenes*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、醋酸杆菌属(*Acetobacter*)及棒杆菌属(*Corynebacterium*)等<sup>[3-4]</sup>。绝大部分氢氧化细菌是兼性化能自养型, 它们可以自养生长、异养生长、甚至混合营养生长, 好氧或兼性厌氧。自养氢氧化细菌不能利用有机物, 固定 CO<sub>2</sub> 反应所需的 ATP 和 NADH 全部由氢化酶催化 H<sub>2</sub> 提供, 然后菌体利用卡尔文循环、还原三羧酸循环、乙酰辅酶 A 途径、甘氨酸途径等固定 CO<sub>2</sub><sup>[5]</sup>。氢氧化细菌属于植物根际促生菌, 对农作物的增产具有重要作用, 有关土壤中植物根际促生菌(Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR)的研究在国际上受到普遍重视<sup>[6]</sup>。经过对 Hup<sup>-</sup>豆科作物根际微生物生理生态特性的长期研究, Dong 和 Layzell 在世界上首次提出了 Hup<sup>-</sup>根瘤释放的 H<sub>2</sub> 可以通过促进根际微生物的生长来促进植物生长的理论, 即“氢肥理论”<sup>[4]</sup>。本文拟对氢氧化细菌的分离及筛选方法进行概述, 并重点论述氢氧化细菌促生作用及促生机理等方面的最新研究进展, 同时对其应用前景作以展望。

## 1 氢氧化细菌的分离及筛选方法

### 1.1 氢氧化细菌的分离、纯化方法

由于氢氧化细菌的独特特性及其分离纯化技术

的限制, 其分离纯化工作一直进展缓慢。氢氧化细菌生长需要 H<sub>2</sub> 提供能量, 在提供 H<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 混合气体的条件时, 氢氧化细菌能够生长在低营养培养基上。所以一般采用固体或者液体矿质培养基作为氢氧化细菌的筛选培养基<sup>[2-3,7-8]</sup>。根据 H<sub>2</sub> 的供应方式, 氢氧化细菌的分离培养方法分为配气法和电解水持续通氢法。

(1) 配气法: 氢氧化细菌的分离, 一直以来都采用在密闭容器内通入 80% H<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> 和 10% O<sub>2</sub> 混合气体的配气法<sup>[9-10]</sup>。配气法有很多局限性, 因为氢氧化细菌的分离培养时间长, 为防止 H<sub>2</sub> 耗尽, 一般培养几天就要重新配气, 操作繁琐, 并且密闭容器内的 H<sub>2</sub> 浓度不稳定, 总是处于变化之中; 混合气体中 H<sub>2</sub> 浓度较高, 存在一定的安全隐患(H<sub>2</sub> 浓度 ≥ 5% 易于爆炸); 对于氢氧化细菌是否富集的持续监测存在一定的难度; 筛选出的氢氧化细菌与氢氧化细菌种群的自然环境有较大的差异, 对于研究自然状态下氢氧化细菌种群生理生化特性会造成一定的影响。

(2) 电解水持续通氢法: Dong 和 Layzell<sup>[11]</sup>通过实验, 采用了持续通氢法来分离培养土壤中的氢氧化细菌, 取得了较好的效果。本实验室采用改进的持续通氢法分别从大豆根际土壤中分离出 20 株氢氧化细菌<sup>[4]</sup>, 其中 9 株吸氢值大于  $1.25 \times 10^{-4}$  mol/L; 从紫花苜蓿中分离出 8 株<sup>[3,12]</sup>, 其中菌株 WMQ-7 吸氢值达  $19.90 \times 10^{-4}$  mol/L。电解水持续通氢法<sup>[10-11]</sup>与传统的配气法相比有较多优点: H<sub>2</sub> 的制备设备简单、廉价, H<sub>2</sub> 浓度较低、稳定且便于调控, 无安全隐患; 便于开展氢氧化细菌富集过程的持续监测; 培养条件与氢氧化细菌种群的自然环境接近, 便于筛选出自然条件下的氢氧化细菌, 对于研究自然状态下土壤中氢氧化细菌种群生理生化特性有着重要的意义。目前, 国内外研究者主要采用持续通 H<sub>2</sub> 混合气体和通空气装置(图 1)来分离培养氢氧化细菌<sup>[3,7,11-13]</sup>。

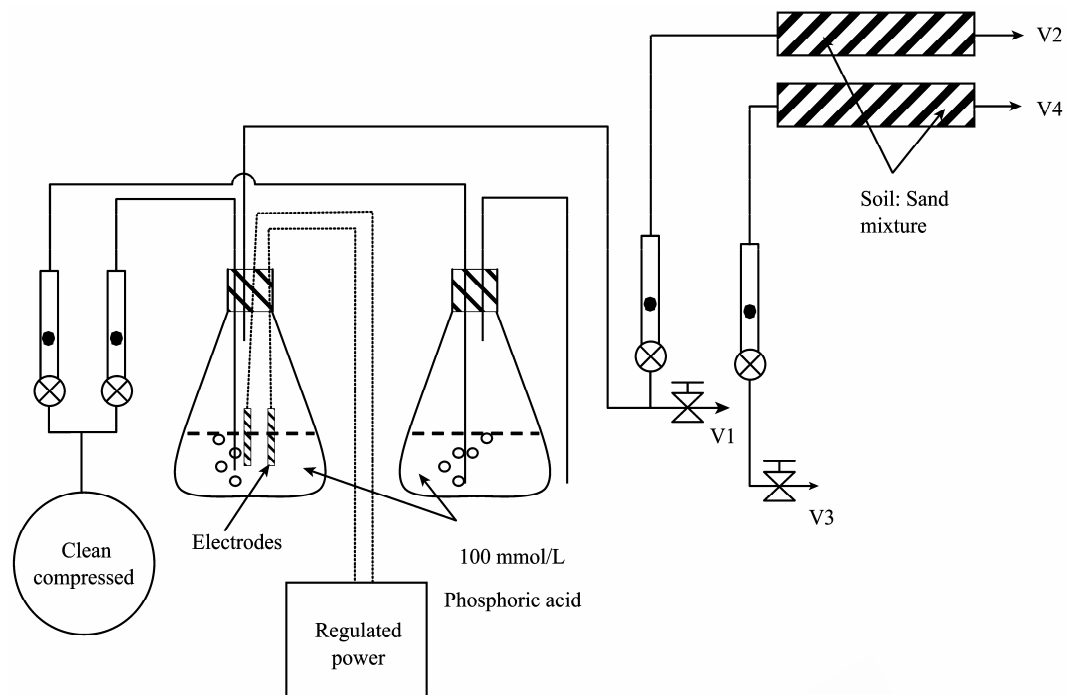


图1 土壤与石英砂混合物持续通 H<sub>2</sub> 混合气体或通空气培养装置<sup>[7]</sup>

Fig. 1 Apparatus for exposing soil: sand mixtures to air or to elevated levels of H<sub>2</sub> gas in air<sup>[7]</sup>

## 1.2 氢氧化细菌的筛选方法

通过不同试验检测分离的氢氧化细菌群体: (1) 通过测试 H<sub>2</sub> 含量的减少, 也就是细菌氧化氢的能力来检测氢化酶的存在; (2) 化能自养生长实验检测氢氧化细菌以 H<sub>2</sub> 为唯一能源的能力; (3) 通过 DNA 杂交试验来检测氢化酶基因的存在; (4) TTC 试验用来筛选有氢化酶的细菌。

**1.2.1 氧化氢能力的检测:** H<sub>2</sub> 能被那些有氢化酶但不能以 H<sub>2</sub> 为唯一能源生长的细菌氧化。向已纯化的氢氧化细菌斜面试管通入 H<sub>2</sub> 浓度为  $2.42 \times 10^{-3}$  mol/L 的混合气体, 气相色谱仪检测密闭条件下培养 3 d 后的吸氢值, 即 H<sub>2</sub> 浓度减少量, 以此判断该菌株是否具有氧化氢能力以及氧化氢能力的大小<sup>[14]</sup>。Cunningham 等<sup>[15]</sup>利用气相色谱测试苜蓿根际中含氢化酶的细菌对 H<sub>2</sub> 氧化的能力。本实验室也采用此方法检测氢氧化细菌, 操作过程比较简单, 效果比较好, 适合基础实验室分离筛选氢氧化细菌。

**1.2.2 化能自养生长试验:** 检测分离的细菌有无化能自养的能力, 一般是将其接种到矿质培养皿中或者斜面上并在 80% H<sub>2</sub>、10% O<sub>2</sub> 和 10% CO<sub>2</sub> 的混合气体中培养; 80% N<sub>2</sub>、10% O<sub>2</sub> 和 10% CO<sub>2</sub> 的混合气体培养作为对照, 培养 7-10 d 观察生长结果<sup>[2]</sup>。2001 年 Sangok 等<sup>[14]</sup>用 C 培养基通入 H<sub>2</sub>: O<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub> = 7: 2:

1 (V/V) 比例的混合气体, 以 N<sub>2</sub>: O<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub> = 7: 2: 1 (V/V) 混合气体作为对照, 培养 5-7 d 后观察结果, 从海水分离出固定 CO<sub>2</sub> 的氢氧化细菌 YN-1。2007 年 Jiamila 等<sup>[15]</sup>用 MSA 培养基持续通入 H<sub>2</sub>: O<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub> = 8: 1: 1 (V/V) 比例的气体, 培养 7-10 d 后观察结果, 从大豆根际土壤中分离出 19 株氢氧化细菌。本实验室陈兴都等<sup>[7,16]</sup>将 MSA 平板放入密闭干燥器中, 通入流速为 280 mL/min、含 H<sub>2</sub> 量为 125 μmol/L 的混合气体, 倒置室温培养 15-30 d, 直至长出明显菌落。对照组平板不通 H<sub>2</sub> 混合气体, 室温倒置培养 15-30 d。观察两组细菌菌落的生长情况。检测细菌是否能在以 H<sub>2</sub> 为能源、CO<sub>2</sub> 为主要碳源的无机盐培养基上自养生长。对比发现, 各学者分离时采用的气体比例都不相同, 主要是由于样品的采集地以及实验室条件等不同, 主要依据是能探索出氢氧化细菌最适分离纯化条件。

**1.2.3 DNA 杂交:** DNA 杂交试验过程较长, 涉及多个具体步骤<sup>[12]</sup>。氢化酶代表了很多非自养细菌群体的酶, 它们在功能、结构和存在位置[(Fe)\(FeNi)\(FeNiSe)<sup>-</sup>氢化酶\细胞质内和细胞膜上的氢化酶]都不相同<sup>[17]</sup>。很多自养生长和氢氧化能力呈阳性的细菌对 DNA 探针表现不出杂交信号<sup>[2]</sup>, 可能是由于 DNA 探针仅包含了全部可能的氢化酶基因的一小

部分, 分离菌的基因多样化而不能被 DNA 探针检测到的缘故。这意味着探针不能检测出具有氢化酶基因的全部细菌, DNA 杂交试验具有一定的局限性, 很多氢化细菌都不能检测出来, 仅能检测一小部分氢化细菌, 但对自养生长群体的检测则是最严格的一种检测方法。

**1.2.4 氢化酶活性检测试验:** 所有氢化细菌的氢化酶都能够将  $H_2$  的电子转移给电子受体(NAD 或者呼吸链的组成部分), 利用 NAD 或者亚甲基蓝作为电子受体<sup>[18]</sup>。氢化细菌有两种类型的氢化酶: 一种是结合在膜上的氢化酶; 另一种是细胞质中的氢化酶。TTC 试验<sup>[2,11,19]</sup>是检测细菌是否拥有氢化酶的常用检测方法。早在 20 世纪七八十年代, 就有一些学者从氢化细菌中提出氢化酶并做电镜观察, 并陆续报道<sup>[20-22]</sup>。目前, 提取氢化酶基因片段研究氢化细菌已经成为氢化酶研究的另一热点<sup>[18,23]</sup>。

在上述几种检测方法中, 氧化氢试验在检测有氢化酶的细菌时的结果是较可靠的。氧化氢试验相对耗时较多, 但是它不能被别的试验取代, 因为其他试验很多时候会给出假阳性反应的结论。尽管 DNA 杂交试验不能从足够广泛的范围去检测含有氢化酶的细菌, 但它能够检测那些氧化氢试验检测不出的细菌, 比如说检测那些有氢化酶基因但在一般生长条件下不能表达的细菌, 因此杂交试验在检测上仍是有用的。既方便又便宜的 TTC 试验在混合细菌群体中对氧化氢能力的检测不够具体, 并且会给出假阳性的结论。

## 2 氢化细菌的促生机制

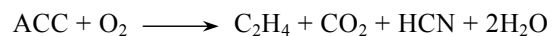
氢化细菌属于植物根际促生菌 (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR), 对农作物的生长具有有益作用, 其研究价值受到国内外研究者的重视<sup>[6]</sup>。PGPR 主要通过以下几种方式直接促进植物吸取营养<sup>[24]</sup>: (1) 固氮; (2) 通过铁载体增加植物铁营养; (3) 产生植物激素如生长素和细胞分裂素; (4) 解磷作用; (5) 合成 ACC 脱氨酶, 可以调节植物乙烯浓度, 促进植物快速生长。

Dong 等<sup>[25]</sup>实验发现经  $H_2$  处理过的土壤对春小麦、油菜、大麦和大豆有明显的生长促进效应。2003 年 Donna 等<sup>[24]</sup>实验说明氢化细菌能够促进芸苔幼苗根的伸长。2007 年 Jiamila 等<sup>[15]</sup>研究发现从豆科

植物分离出来的氢化细菌处理小麦种子能明显提高叶片数量以及根长、苗长和干重。2008 年 Baby 等<sup>[26]</sup>发现 2 种产 ACC 脱氨酶的植物根际促生菌, 荧光假单胞菌 ACC<sub>50</sub> 和荧光假单胞菌生物型 FACC<sub>73</sub> 能够促进小麦生长并提高利用营养物质的效率, 同时能够使 3 种主要的元素 N、P、K 的含量发生变化。经盆栽和试验田验证, 菌株能够促进小麦的生长并增加土壤中 N、P、K 元素的含量。2009 年 Chinnadurai 等<sup>[27]</sup>从水稻叶际中分离出产 ACC 脱氨酶的菌株, 16S rRNA 分析可知, 该菌株 ACC 脱氨酶基因序列与根瘤菌属的同源性达到了 98%, 进一步实验证明该菌株能够增加水稻和番茄根和幼苗的长度, 能够使乙烯降低到原有水平的 60%–80%。本实验室陈兴都等<sup>[16]</sup>从大豆根际土壤中筛选出具有 ACC 脱氨酶的菌株 A06, 证实 ACC 脱氨酶是导致大豆根际土壤中氢化细菌促进小麦幼苗生长的原因之一。付博等<sup>[13]</sup>用紫花苜蓿根际分离筛选出的 8 株氢化细菌处理小麦种子, 经盆栽实验发现, 处理过的小麦根长、苗长、干重以及穗长、麦粒数、穗数等都显著提高, 并且小麦中的还原糖、总糖含量、蛋白质含量也都比对照有不同水平的提高。结合近年来国内外的研究动态分析, 氢化细菌可能有以下几方面的促生机制。

### 2.1 产生 ACC 脱氨酶

乙烯是 5 大类植物激素中结构最为简单的唯一的气态物质。它参与了从种子萌发到成熟衰老的一系列生命过程的调节<sup>[28]</sup>。在乙烯生物合成途径中的一个重要的中间产物为 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC), 它是一种非蛋白氨基酸<sup>[29]</sup>。乙烯由 ACC 直接产生, 其反应为:



部分氢化细菌可产生 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC) 脱氨酶, 它能够水解乙烯的生物合成前体 ACC, 阻止乙烯的产生, 从而促进植物的生长<sup>[30]</sup>。对于大多数植物, 乙烯能刺激种子萌发, 打破休眠, 但是种子萌发后, 过多的乙烯会抑制根的伸长。很多已经分离的氢化细菌都存在 ACC 脱氨酶基因, 能够合成 ACC 脱氨酶, 将 ACC 水解成氨和  $\alpha$ -丁酮酸, 利用土壤内的 ACC 作为氮源, 它们与其他根周围不能利用 ACC 的微生物相比, 在竞争中就比较有利。2009 年 Jin

等<sup>[31]</sup>从加拿大萨斯喀彻温省的30个不同地区分离出233株根瘤菌,经检测有27株具有ACC脱氨酶活力,利用反PCR技术分析其菌株ACC脱氨酶结构基因的特征,发现17株能够编码甲硫氨酸反应的调节蛋白。本实验室付博等<sup>[12]</sup>分离出的氢氧化细菌 *Pseudomonas putida* WMQ-7菌株ACC脱氨酶活力高达0.671 U/ $\mu\text{g}$ ,证明了它可以促进小麦根的伸长,特别是在播种后几天内的促进根伸长作用能增强幼苗的成活率。

## 2.2 产生铁载体

铁载体(Siderophores)是一类具有很强的特异螯合 $\text{Fe}^{3+}$ (螯合系数可达 $10^{20}$ – $10^{30}$ )的小分子化合物,虽然铁元素在地壳中的含量为第4位,但是大多数的铁元素并不容易被生物利用。铁载体通过抑制有害微生物而促进植物生长,这些物质还会对植物产生刺激作用<sup>[32–34]</sup>。2008年田方等<sup>[35]</sup>从烟草根际分离筛选出产铁载体菌株*P. mediterranea* G-229-21T,发现它可以与植物根际病原微生物争夺有限的铁营养,从而抑制病原微生物生长繁殖,在生物防治方面起重要作用。

## 2.3 分泌抗生素

一些氢氧化细菌可分泌抗生素,如荧光假单胞菌可产生抗生素氰化氢(Hydrogen cyanide, HCN)和2,4-二乙酰基藤黄酚(2,4-diacetylphloroglucinol, PhI),可以抑制土壤病原微生物的生长与繁殖等,从而减少植物病原物对植物的侵染,增强植物抗逆性<sup>[15,24,36]</sup>。

## 2.4 降低 N-酰基高丝氨酸内酯活性

部分氢氧化细菌能够降低 N-酰基高丝氨酸内酯(HSL or NAHL)活性,它是根际土壤微生物群落中一种关键的传感信号调节剂<sup>[37]</sup>。许多根际细菌的不同功能需要协调激活才能产生,当细菌密度达到“适当值”时, N-酰基高丝氨酸内酯能准确诱导细菌不同功能发生。这种传感调节主要在革兰氏阴性细菌中。植物根际周围的氢氧化细菌通过降低 N-酰基高丝氨酸内酯活性竞争革兰氏阴性细菌的自然生态系统,并且能够减弱其他土壤细菌的病原性,作为一种抗毒力因素抵抗病原菌,从而促进植物生长。

## 2.5 分泌其他化合物

一些氢细菌可以分泌磷酸酶、蛋白酶、脂肪酶、生长素、细胞分裂素及其抗真菌毒素代谢物<sup>[15,24,38]</sup>等。2008年 Popavath 等<sup>[38]</sup>从香蕉根际周围分离出

荧光假单胞菌,发现该菌株能够产生酶和激素如磷酸酶、生长素、蛋白酶和抗真菌毒素代谢物等。

以上比较系统和全面地介绍了氢氧化细菌促生机制的相关最新研究进展,特别是氢细菌产 ACC 脱氨酶和铁载体的报道比较多,并且结果可靠。通过比较我们发现氢氧化细菌的促生机制也可能是上述几种作用综合的结果。PGPR 通过 2 种方式促进植物生长,即直接和间接方式<sup>[23,37,39]</sup>。一方面,氢氧化细菌的大量繁殖可能改变根际土壤微生物的种群结构,减轻或者避免某一种或几种病原微生物的有害作用;另一方面,氢氧化细菌也可能合成某种化合物供植物利用或者有助于植物从环境中吸收某些营养物质。

## 3 氢氧化细菌的应用研究

由于土壤中氢氧化细菌的特殊性质,国内外的文献资料对于土壤中的氢氧化细菌应用的研究报道较少,主要为氢氧化细菌促进植物生长研究和环境保护方面的报道。

近年来,国际上对于土壤中 PGPR,或者称之为增产菌(Yield-increasing bacteria, YIB)的研究普遍都很重视<sup>[5,15,30,40]</sup>。许多根瘤中不含吸氢酶(Uptake hydrogenase, HUP<sup>-</sup>)的豆科作物,即 HUP<sup>-</sup>豆科作物,如苜蓿、75%的大豆等,不能氧化固氮过程中产生的 $\text{H}_2$ 而释放大量的 $\text{H}_2$ ,根际周围土壤中的 $\text{H}_2$ 含量较高<sup>[41–42]</sup>,但是很少或几乎没有 $\text{H}_2$ 从植物土壤系统溢出。董忠民等在世界首次提出了 HUP<sup>-</sup>根瘤释放的 $\text{H}_2$ 可通过促进根际微生物的生长来进一步促进植物生长的理论,即“氢肥理论”<sup>[4,43]</sup>,从一个新的角度对轮作效应提出了一种新的理论解释,也使人们对于氢氧化细菌促进植物生长的作用机理及如何将其应用于农业生产实践的研究产生了浓厚的兴趣。

2009年 Dong 等<sup>[23]</sup>利用末端限制性片段长度多态性技术(T-RFLP)分析和比较了2种土壤中细菌群落结构,16S rRNA TRF(Terminal restriction fragment)结果表明氢代谢作用能够显著改变土壤微生物的群落结构。促进氢细菌生长的同时,可以明显抑制其他细菌种群的生长。

2001年 Sangok 等<sup>[14]</sup>分离出一种固定 $\text{CO}_2$ 的氢氧化细菌,它能有效地利用 $\text{CO}_2$ 为碳源,在 $\text{CO}_2$ 浓度很高并且缺少光照的条件下可以有效固定 $\text{CO}_2$ ,

表明这种细菌能够应用于生物固定  $\text{CO}_2$  的过程, 从而可以大量减少工厂中  $\text{CO}_2$  排放量, 对全球温室效应有一定的抑制作用。2007 年 Bernard 等<sup>[44]</sup>从土壤中分离出 ACC 脱氨酶菌株, 该菌株在病原菌、盐、干旱、洪涝、重金属、有机物污染及根瘤菌感染等侵害及胁迫下仍然能够促进植物生长。2009 年 Sudhir 等<sup>[45]</sup>从盐渍条件下小麦根际土壤分离出 130 株植物根际促生菌, 分别以高盐处理, 结果显示有 24 株菌能够耐高盐, 所有菌株都可以产生生长素, 10 株具有溶磷作用, 8 株产生铁载体, 6 株产生赤霉素, 只有 3 株可以产生 ACC 脱氨酶, 经 16S rDNA 分析, 这些菌株为杆菌属和芽孢杆菌属。植物根际促生菌能保护突发环境不利因素对植物生长的影响, 包括营养物质的缺少、温度及湿度的改变、氧胁迫及其土壤盐含量的升高。

另外, 国外许多学者<sup>[46-48]</sup>早年研究发现氢氧化细菌能够产生胞内多糖等物质, 这对于研究胞内糖原的生理作用具有重要的意义, 氢细菌还可以发酵产生氨基酸、有机酸、单细胞蛋白和维生素等物质。

结合近几年的研究进展, 我们整合了氢氧化细菌几个方面的应用研究, 相信随着氢氧化细菌研究的继续深入和拓展, 今后可能还会有新的应用方面被发现。目前国内氢氧化细菌研究很少, 国外研究也不是很多。作者认为更多的学者可致力于氢氧化细菌促生机理及其应用方面的研究, 为真正有研究价值的氢氧化细菌的培养和应用提供可靠的理论依据。氢氧化细菌大有可用, 在资源环境保护和促进农作物生长以及造福人类方面发挥重要作用, 将日益受到人们的普遍认同和深度研发。氢氧化细菌产生某些生理活性物质的可能性以及采用基因工程方法改造菌株特性, 将是人们今后研究的热点课题。

#### 4 氢氧化细菌的发展前景

目前, 人们所培养的微生物仅为自然界存在微生物中的少数, 约有 1.0% 或更少, 95% 以上的土壤细菌还未被分离, 其主要原因是培养条件不能满足微生物对营养条件和环境条件的要求。由于氢氧化细菌的独特特征和大多数土壤细菌的不可培养性, 土壤氢氧化细菌的分离较为困难, 至今没有太多结果。氢氧化细菌的分离、培养、分类鉴定以及相关的研究只在世界上少数几个实验室进行, 国内这方

面的研究还比较少。为此, 我们应该加强国际之间的合作交流, 在不同国家和地区、不同土壤类型、不同豆科植物根际取样, 以便能够获得大量的氢氧化细菌, 获得尽量多的种质资源。尽管氢氧化细菌的研究尚处于初始阶段, 但完全有理由相信将来经过筛选改造的氢氧化细菌工程菌株会广泛应用于农业, 极大提高农作物的产量和质量, 同时也能从根本上解决土壤、水源和食品污染等困扰人类生存与健康等问题, 具有十分重要的研究价值。

#### 参考文献

- [1] 郑士民, 颜望月, 钱新民. 自养微生物. 北京: 科学出版社, 1983: 66-79.
- [2] Hans DK, Sabine L, Ralf C. Characterization of populations of aerobic hydrogen-oxidizing soil bacteria. *Microbiology Ecology*, 1995(16): 167-176.
- [3] 付博, 王卫卫, 郝莹, 等. 紫花苜蓿根际氢氧化细菌的分离与鉴定. *应用与环境生物学报*, 2009, 15(5): 650-654.
- [4] Dong Z, Wu L, Kettlewell B, et al. Hydrogen fertilization of soils-is this a benefit of legumes in rotation. *Plant, Cell and Environment*, 2003(26): 1875-1879.
- [5] 周集体, 王竞, 杨凤林. 微生物固定  $\text{CO}_2$  的研究进展. *环境科学进展*, 1999, 7(1): 1-9.
- [6] 胡江春, 薛德林, 马成新, 等. 植物根际促生菌的研究与应用前景. *应用生态学*, 2004, 15(10): 1963-1966.
- [7] 陈兴都, 王卫卫, 郭利伟, 等. 大豆根际土壤中氢氧化细菌的分离、筛选和基本特征. *应用生态学报*, 2007, 18(9): 2069-2074.
- [8] Petrović Olga, Knežević Petar, Marković Jelena, et al. Screening method for detection of hydrocarbon-oxidizing bacteria in oil-contaminated water and soil specimens. *Journal of Microbiological Methods*, 2008(74): 110-113.
- [9] Goto E, Suzuki K, Minoda Y, et al. Improvement of initial and exponential growth of hydrogen bacteria, strain 9-5. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1977(41): 521-525.
- [10] Kodama T, Igarashi Y, Minoda YB. Material balance and efficiency of energy conversion for the autotrophic growth of a hydrogen bacterium. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1975(39): 83-87.
- [11] Dong Z, Layzell DB.  $\text{H}_2$  oxidation,  $\text{O}_2$  uptake and  $\text{CO}_2$  fixation in hydrogen treated soils. *Plant and Soil*, 2001, 22(9): 1-12.
- [12] 付博, 王卫卫, 唐明, 等. 一株产 1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶的氢氧化细菌的分离鉴定及酶活力测定. *微生*

- 物学报, 2009, **49**(3): 395–399.
- [13] Jiamila Maimaiti, Ye Zhang, Jing Yang, *et al.* Isolation and characterization of hydrogen-oxidizing bacteria induced following exposure of soil to hydrogen gas and their impact on plant growth. *Environmental Microbiology*, 2007, **9**(2): 435–444.
- [14] Sangok B, Kyungoh K. Isolation and characterization of CO<sub>2</sub>-fixing hydrogen-oxidizing marine bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2001, **5**(91): 442–448.
- [15] Cunningham SD, Kapulnik YA, Phillips DA. Distribution of hydrogen-metabolizing bacteria in Alfalfa field soil. *Microbiol*, 1986(52): 1091–1095.
- [16] 陈兴都, 王卫卫, 付博, 等. 大豆根际土壤中氢化细菌促生效应研究. 西北植物学报, 2008, **28**(1): 136–140.
- [17] Adams MW. The structure and mechanism of iron-hydrogenases. *Biochim Biophys Acta*, 1990, **10**(20): 115–145.
- [18] Yasufumi Ueda, Masahiro Yamamoto, Takashi Urasaki, *et al.* Sequencing and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis of four hydrogenase gene clusters from an obligately autotrophic hydrogen-oxidizing bacterium, *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6. *The Society for Biotechnology (Japan)*, 2007, **104**(6): 470–475.
- [19] Welbaum GE, Dong Z, Nowak J. Managing soil microorganisms to improve productivity of agro-ecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2004(23): 175–193.
- [20] Tsuprun VL, Utkin IB, Popov VO, *et al.* Electron microscopy of the hydrogenase from the hydrogen-oxidizing bacterium *Alcaligenes eutrophus* Z1. *Federation of European Biochemical Societies*, 1986(197): 225–228.
- [21] Nicole McLearn, Zhongmin Dong. Microbial nature of the hydrogen-oxidizing agent in hydrogen-treated soil. *Biol Fertil Soils*, 2002(35): 465–469.
- [22] Ruiz-Argüeso T, Palacios JM, Imperial J. Regulation of the hydrogenase system in *Rhizobium leguminosarum*. *Plant and Soil*, 2001(230): 49–57.
- [23] Ye Zhang, Xiang He, Zhongmin Dong. Effect of hydrogen on soil bacterial community structure in two soils as determined by terminal restriction fragment length polymorphism. *Plant Soil*, 2009(320): 295–305.
- [24] Donna MP, Bernard RG. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 2003(118): 10–15.
- [25] Weller DM. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann Rev Phytopathol*, 1988(26): 397–407.
- [26] Baby Shaharona, Muhammad Naveed, Muhammad Arshad, *et al.* Fertilizer-dependent efficiency of pseudomonads for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L). *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008(79): 147–155.
- [27] Chinnadurai C, Balachandar D, Sundaram SP. Characterization of ACC deaminase producing methylobacteria from phyllosphere of rice and their role in ethylene regulation. *World J Microbiol Biotechnol*, 2009(25): 1403–1411.
- [28] Jasper D, Filip V, Dominique VD. To grow or not to grow: what can we learn on ethylene-gibberellin cross-talk by in silico gene expression analysis? *Journal of Experimental Botany*, 2008, **59**(1): 1–16.
- [29] 陈建新, 刘国顺. 乙烯生物合成途径及其相关基因工程的研究进展. 热带亚热带植物学报, 2002, **10**(1): 83–98.
- [30] Arshad M, Shahroona B, Mahmood T. Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening of pea. *Pedosphere*, 2008, **18**(5): 611–620.
- [31] Jin D, Kirsten MM, Trevor CC. 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase genes in rhizobia from southern saskatchewan. *Microb Ecol*, 2009(57): 423–436.
- [32] 于素芳, 丁延芹, 姚良同, 等. 一株棉花根际铁载体产生菌 E19 的分离鉴定. 生物技术, 2007, **17**(6): 19–21.
- [33] Falguni R, Joshi M. Siderophore cross-utilization amongst nodule isolates of the cowpea miscellany group and its effect on plant growth in the presence of antagonistic organisms. *Microbiological Research*, 2008(163): 564–570.
- [34] Isabelle JS. Metal trafficking via siderophores in Gram-negative bacteria: specificities and characteristics of the pyoverdine pathway journal of inorganic. *Biochemistry*, 2008(102): 1159–1169.
- [35] 田方, 丁延芹, 朱辉, 等. 烟草根际铁载体产生菌 G-229-21T 的筛选、鉴定及拮抗机理. 微生物学报, 2008, **48**(5): 631–637.
- [36] Weller DM. Colonization of wheat roots by a fluorescent pseudomonad on suppressive to take-all. *Phytopathology*, 1983(73): 1548–1553.
- [37] Dong Z. Effect of legume nodule hydrogen uptake status on hydrogen-oxidizing rhizobacteria and the rotation of crop. *Biological Nitrogen Fixation*, 2005: 273–275.
- [38] Popavath Ravindra Naik, Nirakar Sahoo, Devrishi Goswami. Genetic and functional diversity among fluorescent pseudomonads isolated from the rhizosphere of banana. *Microb Ecol*, 2008(56): 492–504.
- [39] Silvana TM. Microbial community succession and bacterial diversity in soils during 77000 years of ecosystem development. *Microbiol Ecol*, 2008(64): 129–140.
- [40] Klopfer JW, Leong J, Teintze M, *et al.* *Pseudomonas siderophores* a mechanism explaining disease-suppressive soil. *Current Microbiology*, 1980(4): 317–320.
- [41] Urastu S, Keyser H, Weber D, *et al.* Hydrogen uptake (HUP) activity of *Rhizobium japonicum* from major U.S. soybean production areas. *Crop Science*, 1982(22): 600–602.

- [42] Irvine P, Smith M, Dong Z. Hydrogen fertilizer: bacteria or fungi? *Acta Horticulturae*, 2004, **6**(31): 39–42.
- [43] Dong Z, Layzell DB. Nitrogen Fixation. New York: CABI Publishing, 2002: 331–335.
- [44] Bernard RG, Zhenyu Cheng, Jennifer Czarny. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Eur J Plant Pathol*, 2007(119): 329–339.
- [45] Sudhir KU, Devendra PS, Ratul S. Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria isolated from rhizospheric soil of wheat under saline condition. *Curr Microbiol*, 2009, **8**(22): 1–8.
- [46] Bowien B, Schlegel SG. Physiology and biochemistry of aerobic hydrogen-oxidizing bacteria. *Ann Rev Microbiol*, 1981(35): 405–452.
- [47] Nishihara H, Igarashi Y, Kodama T, *et al.* Production and properties of glycogen in the marine obligate chemolithoautotroph, *Hydrogenovibrio marinus*. *J Ferment Bioeng*, 1993, **75**(6): 414–416.
- [48] Nguyen BT, Kodama T, Minoda Y. Extracellular polysaccharide formed by pseudomonas hydrogenovora in autotrophic culture and its physiological activities. *Agri Biol Chem*, 1980, **44**(12): 2925–2930.

## 征 稿 简 则

### 1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果,产业化新技术和新进展,以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有:研究报告、专论与综述、生物实验室(原技术与方法)、高校教改纵横(原高等院校教学)、名师名课(原名师讲堂)、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会议等。

### 2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>, 点击作者投稿区,第一次投稿请先注册,获得用户名和密码,然后依照提示提交稿件,详见主页“投稿、征稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿,图与文字编好页码、图号后合成一个文件上传。凡不符合(投稿须知)要求的文稿,本部恕不受理。

### 3 写作要求

来稿要求论点明确,数据可靠,简明通顺,重点突出。

#### 3.1 篇幅

以 A4 纸 5 号字计算,综述、教学和方法类文章最好在 4 页以内,研究报告 4–7 页(以上均包括图表)。

#### 3.2 图表

文中的图表须清晰简明,文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm(占半栏),大图的宽度应小于 17 cm(通栏)。

#### 3.3 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码,未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出,多于 3 人时列出前 3 人,后加“等”或“*et al.*”,作者姓前、名后,名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外刊名可以缩写,但必须标准,不加缩写点,斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

- 期刊: [1] 刘杰,成子强,史宣玲. SARS 冠状病毒 *nsp14* 基因的克隆和表达. *微生物学通报*, 2007, **34**(2): 1–3.  
 [2] Kajiura H, Mori K, Tobimatsu T, *et al.* Characterization and mechanism of action of a reactivating factor for adenosylcobalamin-dependent glycerol dehydratase. *J Biol Chem*, 2001, **276**(39): 36514–36519.
- 图书: [3] 钱存柔,黄仪秀. *微生物实验教程*. 北京: 北京大学出版社, 2000: 4.  
 [4] 董志扬,张树政,方宣钧,等. 海藻的生物合成及抗逆机理//华路等. *核农学进展*. 北京: 中国农业出版社, 1996: 115–120.

脚注(正文首页下方):

基金项目: 基金项目(No. )

\*通讯作者: Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2010-00-00; 接受日期: 2010-00-00

(下转 p.1540)