

葡萄糖氧化酶基因转入香蕉及枯萎病抗性鉴定*

裴新梧¹ 叶尚² 张永强¹ 陈世凯² 黄家庆² 温瑞明²
陈军旺² 王志兴¹ 贾士荣^{1**}

1. 中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081; 2. 广东省信宜市农业科学研究所, 信宜 523530

摘要 体外抑菌实验表明, 葡萄糖氧化酶(GO)与过氧化氢对香蕉枯萎病菌4号小种(*Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* race 4)抑杀作用显著. 利用农杆菌侵染香蕉试管苗假茎薄片辅助基因枪轰击的遗传转化方法, 将黑曲霉中克隆的GO基因转入香蕉栽培品种, PCR分析表明61株整合有葡萄糖氧化酶基因. 采用苗期盆栽伤根淋菌和大田伤根浇菌的方法鉴定转基因香蕉的枯萎病抗性. 盆栽接菌60d后, 非转基因植株表现明显的枯萎病症状, 叶片脱水、黄化、下垂、假茎纵切面有紫红色斑点, 而转基因植株中的31株无任何病症. 大田病圃伤根浇菌后, 有2株枯萎病抗性显著, 并已挂果.

关键词 香蕉枯萎病 葡萄糖氧化酶 转基因香蕉

香蕉枯萎病(banana vascular wilt)也称巴拿马病(Panama disease), 由 *Fusarium oxysporum* 引起, 是土传维管束真菌病害, 危害严重. 近年出现的4号小种危害性更大, 可感染所有的香蕉、大蕉品种, 包括对其他枯萎病小种有抗性的Cavendish群香蕉^[1]. 我国香蕉主产区广东、海南、福建等地均已发病^[2,3], 目前尚无理想的防治药剂, 因此迫切需要培育抗枯萎病的香蕉品种. 但食用栽培香蕉绝大多数为三倍体, 不育、不结实, 难以通过有性杂交的方式改良.

基因工程技术是作物改良的有效途径之一. Ganapathi, Becker等^[4,5]以香蕉悬浮细胞系为外植体, 用农杆菌转化法获得了转基因香蕉. Sagi等^[6]也用基因枪法获得了转基因香蕉植株. May等^[7]以香蕉无菌苗的茎尖分生组织及假茎薄片为外植体, 通过农杆菌转化成功. 李华平等^[8]研究了以芽尖为外植体进行农杆菌侵染转化的条件. 但由于香蕉是单子叶植物, 不易被农杆菌侵染, 并且在组织培养过程中褐化严重, 因此目前尚未建立起成熟高效的

农杆菌转化体系.

葡萄糖氧化酶(GO)是由Muller于1928年在黑曲霉提取物中发现的, 它可以催化 β -D-葡萄糖氧化生成葡萄糖酸和 H_2O_2 , 是近年来研究较多的一种与信号传导有关的活性氧类(AOS)分子, 它不仅对病原微生物具有直接的抑杀作用, 还可通过信号传导途径诱发细胞壁结构蛋白的氧化交联阻止病菌的侵入^[9]及激活水杨酸合成以诱导防卫基因的表达, 使植物产生系统获得性抗性^[10,11]. 利用GO基因产生 H_2O_2 来提高植物的抗病性作为一种策略^[12], 已在马铃薯、烟草、棉花、水稻、甘蓝等多种作物上取得了有意义的结果^[13-17].

本研究以香蕉组培苗假茎薄片为外植体, 利用农杆菌侵染辅助基因枪轰击的遗传转化方法, 将黑曲霉GO基因转入香蕉栽培品种, 苗期盆栽伤根淋菌与大田伤根浇菌鉴定结果表明, 转基因香蕉对枯萎菌4号小种的抗性明显, 这是利用转基因方法培育抗枯萎病香蕉品种或资源的一种尝试.

2004-07-30 收稿, 2004-09-08 收修改稿

* 国家“八六三”计划资助项目(批准号: 2004AA212140)

** 通讯作者, E-mail: jiasr@mail.caas.net.cn

1 材料与方法

1.1 GO 抑菌实验

香蕉枯萎菌 4 号小种由广东省农业科学院植物保护研究所从广东省信宜市发病香蕉园中分离。保存在 PDA (potato dextrose agar) 斜面培养基上, 30 ± 1°C 培养 5 d 后收集孢子, 离心孢子悬浮液, 收集沉淀, 用无菌水洗沉淀两次以除去残留的培养基, 稀释孢子悬浮液至 1.5 × 10⁵ 个/mL。

吸菌液 2 μL 分别滴于加有 GO (0.016, 0.008, 0.004, 0.002 μmol/L, 购自 Amresco 公司, 酶活性 100 U/mg) 的 PDA 平板上, 不同处理均重复 3

次。将平皿置于 (30 ± 1)°C, 4—5 d 后观察病菌生长情况, 病菌长势较对照 (不加葡萄糖氧化酶的 PDA 培养基) 减弱时的浓度为最低抑菌浓度, 病菌完全不能生长的浓度为致死浓度。

1.2 植物表达载体的构建

根据黑曲霉 GO 基因的 DNA 序列, 设计引物 PCR 扩增, 获得完整的 GO 基因^[14], 本实验室保存的 GO 基因载体 pGO 经 PstI/XhoI 部分双酶切, 电泳回收 GO 基因片段, 与 Ubiquitin 启动子连接并克隆到 pCAMBIA1301 (购自澳大利亚 CAMBIA 公司) 的相应位点, 获得单子叶植物表达载体 pCUBi-GO (图 1)。

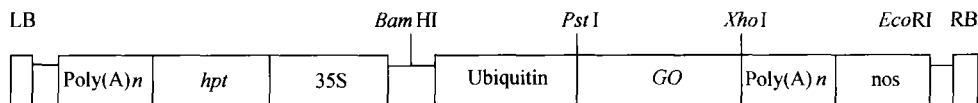


图 1 植物表达载体 pCUBi-GO 基因表达盒示意图

hpt, 潮霉素基因; 35S, 花椰菜花叶病毒 35S 蛋白基因启动子; Ubiquitin, 玉米泛素基因启动子; GO, 葡萄糖氧化酶基因; poly(A), 花椰菜花叶病毒 35S 蛋白基因终止子; LB, T-DNA 左边界; RB, T-DNA 右边界

1.3 香蕉的遗传转化

1.3.1 受体品种 田间取广东信宜主栽香蕉 (*Musa* spp.) 品种粉蕉 (AAB) 和泰蕉 (AAA) 吸芽, 经 0.1% 升汞消毒处理后在超净工作台上剥取顶芽, 接种于生芽培养基 BM 1 [MS^[18] + 5 mg/L 6BA (6-Benzylaminopurine) + 0.1 mg/L IBA (indolebutyric acid) + 5 mg/L 腺嘌呤 + 3% 蔗糖 + 0.8% 琼脂粉 pH 5.8], 经过 3—4 代的芽增殖培养, 横切成 1—2 mm 薄片用于遗传转化。

1.3.2 农杆菌预处理 菌液接种于 YEB (含卡那霉素 50—100 mg/L) 培养基中, 28°C, 150—200 r/min 振荡培养至 OD₆₀₀ 为 0.4—0.5, 将培养好的菌液 5000 r/min 离心 10 min 后, 菌体悬浮于培养基 BM 2 (1/2MS + 100—200 μmol/L 乙酰丁香酮 + 100 g/L 蔗糖 pH 5.2)。

1.3.3 基因枪轰击 切 1—2 mm 厚的香蕉假茎薄片, 置于生芽培养基 BM 1 上, 以裸露的不含目的基因的金粉 (直径 1.0 μm) 轰击 (80 Psi) 薄片, 造成微创伤, 基因枪型号为 PDS-1000/He (BioRad)。

1.3.4 农杆菌侵染 轰击后的薄片在生芽培养基

BM 1 上恢复培养 1—2 d, 28°C。然后农杆菌侵染 20—30 min, 在 BM 3 (MS + 5 mg/L 6BA + 100 μmol/L 乙酰丁香酮 + 0.8% 琼脂粉 + 3% 蔗糖 pH 5.2) 培养基上暗培养 2—3 d。

1.3.5 选择培养 暗培养后的薄片转入生芽选择培养基 BM 4 (MS + 0.1 mg/L IBA + 5 mg/L 6BA + 3% 蔗糖 + 0.8% 琼脂粉 + 6.25 mg/L 潮霉素 (hyg) + 500 mg/L 羧苄青霉素 (Carb) + 3% 蔗糖 pH 5.8), 28°C, 16 h 光/8 h 暗, 光照强度 1500 LX。待长出 3—4 cm 高的芽后转入生根选择培养基 BM 5 (1/2 MS + 0.2 mg/L IBA + 7.5 mg/L hyg + 500 mg/L Carb + 3% 蔗糖 + 0.8% 琼脂粉 + 1% 活性炭 pH 5.8), 培养 3—4 周。

1.3.6 再生苗多代选择培养 为避免嵌合体, 切取生根健壮苗的假茎薄片, 置于选择培养基 BM 1 上生芽, 生芽后再次在生根选择培养基 BM 5 上培养。

1.4 转基因香蕉的分子检测

参考 Paul 等^[19]的方法, 提取香蕉叶片 DNA 和 RNA。

按照 GO 基因设计引物-1: 5'ATC ATC GCT GGT GGA GGT CTG 3'; 引物-2: 5' CAG AAG GTC CCA CAC ATC GAA G 3'. PCR 扩增条件为 94℃ 1min, 53℃ 1min, 72℃ 1min. 循环 35 次.

Southern blot 杂交 提取抗病转基因香蕉植株的基因组 DNA 经 *EcoRI* 酶切后进行 Southern 杂交, 以 GO 基因的 *PstI/XhoI* 片段为探针. 因 GO 基因中及靠近左边界处各有一个 *EcoRI* 位点, 预期的杂交带为 1.4 kb.

Northern blot 杂交 将 40 μg RNA 用毛细管法转移到 HybondTM N+膜上, 用 Prime-α-Gene Labeling System (Promega) 制备探针, 用 [α -³²P]-dCTP 标记 PCR 扩增的 GO 基因片断, 68℃ 杂交 12 h, 洗膜后 X 光片 -70℃ 曝光 24 h, 以非转基因植株为阴性对照.

1.5 转基因香蕉枯萎病抗性鉴定

采用苗期盆栽伤根淋菌^[20]和大田伤根浇菌鉴定对枯萎病 4 号小种的抗性^[2], 菌液孢子浓度为 1.5×10^5 个/mL.

为便于土壤接种, 在 10 kg 砂土与玉米糠(19:1)中加入 1 L 孢子悬浮液, 当香蕉苗长至 6—7 片叶时微切根部, 在菌液中浸泡 3—5 min 后移入带菌土中, 选用正常生长的非转基因苗为对照, 置于 28—30℃ 的光照培养间培养, 60 d 后观察发病情况.

病圃设在广东省信宜市农科所西江温泉试验基地, 北纬 22° 11', 东经 111° 32', 年平均气温 22.4℃, 极端最高气温 39.2℃, 香蕉生育期间积温为 8300℃, 年平均日照时数 3285 h, 年降雨量 1800—2000 mm.

香蕉苗移栽行距 2.5 m, 株距 2.5 m, 每畦移栽香蕉苗 10 株, 移栽同期生长的非转基因香蕉 1 畦 10 株, 施农家肥 3 次, 复合肥和氯化钾各 1 次, 喷施氧化乐果和敌力脱各 1 次. 在营养生长期, 微切根部, 每株浇菌液 1 L, 60 d 后观察发病情况, 以不同生长时期的青叶张数作为抗病性鉴定的初级标准.

2 结果

2.1 GO 的抑菌浓度

体外抑菌实验表明, GO 的最低抑菌浓度为 0.004 μmol/L, 致死浓度为 0.016 μmol/L (图 2),

GO 对 *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* 4 的作用明显.



图 2 GO 对 *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* 4 的体外抑菌实验

GO 浓度从 1—4 分别为 0.016, 0.008, 0.004, 0.002 μmol/L. 接种 4 d 后, 孢子浓度: 1.5×10^5 个/mL

2.2 香蕉遗传转化体系的建立

实验结果表明, 粉蕉和泰蕉对潮霉素的反应敏感, 抑制粉蕉(AAB)薄片生芽和生根的浓度分别为 5 mg/L 和 6.25 mg/L; 抑制泰蕉(AAA)薄片生芽和生根的浓度分别为 6.25 mg/L 和 7.5 mg/L. 1—2 mm 厚度的假茎薄片在生芽培养基上生 3—4 个芽, 经过农杆菌侵染的薄片在含潮霉素的选择培养基上每个切片一般只生 1 个芽, 而且大多数芽的生长受到抑制或白化, 每次继代的薄片生芽率为 30%—40%, 每瓶 8 个薄片平均生一个抗性芽, 其余均白化、不出芽或生长抑制, 也有出现叶片白绿嵌合的情况. 利用基因枪轰击并侵染假茎薄片 2000 个, 经过 2—3 代生芽与生根的交替选择培养, 共获得 21 株转基因香蕉, 以起始侵染的薄片数计算, 转化效率为 1.05%. 香蕉假茎薄片不经过基因枪轰击, 直接进行农杆菌侵染, 经过对 9000 个外植体的侵染转化, 获得了 40 株转基因香蕉, 转化效率为 0.44%.

2.3 转基因香蕉的分子检测

2.3.1 PCR 检测 对经过 2—3 代选择培养的 76 株 hpt^R 抗性株 PCR 检测结果表明, 其中的 61 株为阳性, 阳性率 80.3%, 图 3 显示部分植株的 PCR 结果. 除对照外, 转基因植株和质粒的扩增产物均有一个 1.4 kb 的阳性特征带.

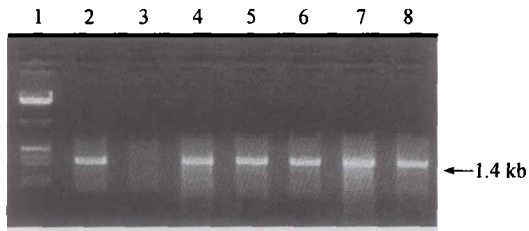


图3 转基因香蕉的PCR分析

1, DNA分子量标准; 2, 阳性对照质粒;
3, 非转基因植株对照; 4—8, 转基因植株

2.3.2 Southern blot 杂交分析 对枯萎病4号小种抗性增强的转基因香蕉植株22, 23, 77, 14, 19等的叶片总DNA, 以GO基因的*Pst*I/*Xho*I酶切片段作探针进行Southern blot杂交. 抗病株均出现1.4 kb的预期杂交带. 证明外源基因已经整合到香蕉基因组中(图4).

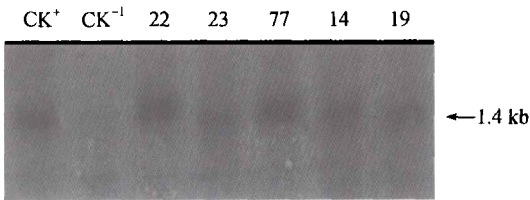


图4 转基因香蕉的Southern blot分析

CK⁺, 阳性对照质粒; CK⁻, 非转基因对照;
22, 23, 77, 14, 19为转基因植株

2.3.3 Northern blot 杂交分析 提取抗枯萎病4号小种植株19, 77, 14, 22, 23的叶片总RNA, 以GO基因的*Pst*I/*Xho*I酶切片段作探针进行Northern杂交. 结果表明抗病株在转录水平表达, 其中以77号信号较强, 14号次之, 23, 19, 22号较弱(图5).

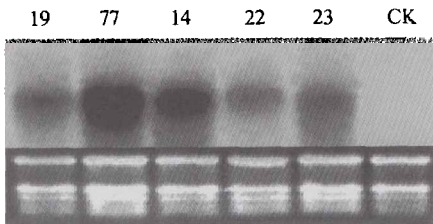


图5 转基因香蕉的Northern blot杂交分析

CK, 非转基因对照; 19, 77, 14, 22, 23为转基因植株

2.4 转基因香蕉盆栽枯萎病抗性鉴定

对PCR检测结果阳性的香蕉苗盆栽伤根淋菌,

在淋菌60 d后, 非转基因香蕉苗出现明显的枯萎病症状, 叶片脱水、黄化、下垂(图6.1), 根和假茎的维管束显紫红色(图7.2), 而转基因香蕉植株的叶片、根和假茎的纵剖面表现正常(图6.2, 图7.1). 在61株转基因香蕉中, 31株无任何病症, 30株表现枯萎病病症, 在苗期淘汰.



图6 转基因植株盆栽淋菌鉴定(淋菌60 d后)菌液

浓度: 1.5×10^5 个/mL. 淋菌量: 1 L/盆

1, 非转基因对照; 2, 转基因香蕉



图7 转基因植株抗枯萎病筛选;

1, 抗病株假茎剖面; 2, 感病株假茎剖面

2.5 转基因香蕉病圃枯萎病抗性鉴定

苗期抗枯萎病的31株移栽到病圃, 在营养生长期伤根浇菌, 所有对照在浇菌60 d后开始出现病症, 叶鞘变软, 病叶叶鞘下部和假茎维管束出现暗红色病斑, 叶片黄化, 最后假茎爆裂、根系变黑坏死. 转基因植株中的2株泰蕉77号和泰蕉14号对枯萎病抗性显著, 现已挂果并扩繁吸芽用于进一步鉴定. 11株在抽蕾后发病, 其中粉蕉14, 22和23号在断蕾时仍各有青叶10, 11, 13张, 但在断蕾后出现枯萎病症状. 18株在抽蕾前就已发病.

3 讨论

GO基因产生 H_2O_2 , 直接杀死病原真菌, 并在

植物-病原互作中起信号传导作用. 在病原侵染的早期, 氧化激增导致 H_2O_2 的大量产生, 诱导一系列植物防卫基因的表达并最终诱发系统获得抗性. H_2O_2 对 9 种病原菌的体外抑杀作用明显^[14]. 本研究表明 GO 对 *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* 4 的抑菌与致死作用显著. 但是高浓度的 H_2O_2 也会对植物细胞造成伤害, Lee 等^[17] 观察到 GO 基因在甘蓝中的过量表达影响结实及种子萌发, 黑曲霉 GO 基因的这种毒害作用在不同植物及同一植物的不同发育时期差异很大^[15-17], 对于有性繁殖的甘蓝、棉花、烟草等, 需要获得结实与发芽均正常的转基因植株, 而无性繁殖的马铃薯、香蕉等就不会受这方面的限制, 在扩繁阶段外源基因也较有性繁殖的作物稳定.

由于栽培香蕉大都不抗枯萎病^[2,3], 香蕉枯萎病 4 号小种正严重地威胁着全球香蕉产业^[21], 我国香蕉主产区广东省危害面很广, 因此选育抗枯萎病 4 号小种的香蕉品种显得十分迫切. 用基因工程改良香蕉的枯萎病抗性, 仅 Chakrabarti 等^[20] 用农杆菌介导法将爪蟾抗菌肽基因 MSI-99 转入粉蕉 Rasthali(AAB)的胚性细胞悬浮系, 获得对香蕉枯萎病 2 号小种抗性的转基因植株.

选用低代香蕉组培苗的假茎薄片为外植体, 虽然转化效率较以悬浮细胞为外植体低, 但转化周期相对较短, 对受体品种基因型的依赖也较小. 薄片仅 1—2 mm 厚, 在选择培养时与培养基充分接触, 侧芽在强的选择压下产生, 避免了非转化细胞的再生, 又经过 2—3 步的生芽与生根交替选择培养, 可以避免嵌合体的出现. 低代组培苗不仅芽生长点多, 其周围的组织都具有潜在的芽分化能力, 薄片利于农杆菌的吸附^[22]. 我们的研究也表明在对薄片的生芽与生根选择培养中, 不同基因型的粉蕉与香蕉对潮霉素反应敏感, 选择有效. 以裸露的不含目的基因的金粉轰击薄片, 造成微创伤, 有利于农杆菌的侵染, 转化效率比直接农杆菌侵染的转化效率高^[23].

我们通过对大量外植体的农杆菌侵染转化与选择培养, 获得了较大的转基因香蕉群体, 采用苗期盆栽淋菌和病圃伤根浇菌的方法鉴定对枯萎病 4 号小种的抗性, 获得了几个抗病单株. Northern 杂交结果显示 77 号转录水平最高, 14 号次之, 这一结

果与病圃抗病性鉴定一致, 也表明通过对较大群体的转基因植株的苗期与成株期的抗病性筛选与农艺性状鉴定, 有望获得抗枯萎病小种的品系.

致谢 广东省农业科学院植物保护研究所香蕉病害研究室提供香蕉枯萎菌 4 号小种.

参 考 文 献

- 1 Stove R H. Fusarium wilt of banana; Some history and current status of the disease. In: Ploetz R C(ed) *Fusarium Wilt of Banana*. APS Press, St Paul, Minn, 1990, 1—7
- 2 曾惜冰, 王碧青, 韩 路, 等. 香蕉品种资源抗枯萎病的鉴定. *中国果树*, 1996, 2: 28—29
- 3 蒲金基, 刘晓妹, 曾会才. 香蕉抗枯萎病育种研究进展. *中国南方果树*, 2003, (32)1: 31—34
- 4 Ganapathi T R, Higgs N S, Balint-Kurti P J, et al. *Agrobacterium* mediated transformation of embryogenic cell suspensions of the banana cultivar Rasthali (AAB). *Plant Cell Rep*, 2001, 20: 157—162
- 5 Becker D K, Dugdale B, Smith M K, et al. Genetic transformation of Cavendish banana (*Musa* spp. AAA group) cv 'Grand Nain' via microprojectile bombardment. *Plant Cell Rep*, 2000, 19: 229—234
- 6 Sagi L, Panis B, Remy S, et al. Genetic transformation of banana and plantain (*Musa*, spp.) via particle bombardment. *Biotechnology*, 1995, 13: 481—485
- 7 May G D, Afza R, Mason H S, et al. Generation of transgenic banana (*Musa acuminata*) plants via *Agrobacterium* mediated transformation. *Biotechnology*, 1995, 13: 486—492
- 8 李华平, 胡晋生, 王 敏, 等. 香蕉茎尖遗传转化法研究. *热带作物学报*, 2000, 21(4): 33—38
- 9 Bradley D J, Kjellbom P, Lamb C J, et al. Elicitor-and wound-induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein: A novel, rapid defense response. *Cell*, 1992, 70: 21—30
- 10 Leon J, Lawton M A, Raskin J. Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco. *Plant Physiol*, 1995, 108: 1673—1678
- 11 Chen Z, Silva H, Klessing D F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science*, 1993, 162: 1883—1886
- 12 Wu G, Shortt B J, Lawrence E B, et al. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H_2O_2 -generating glucose oxidase in transgenic potato plants. *Plant Cell*, 1995, 7: 1357—1368
- 13 甄 伟, 陈 溪, 梁浩博, 等. 转基因马铃薯中病原诱导 GO 基因的表达及其对晚疫病的抗性. *科学通报*, 2000, 45, 10:

- 1701—1075
- 14 王志兴, 刘显辉, 孙敬三, 等. 葡萄糖氧化酶基因的克隆及其在转基因烟草中的表达. 自然科学进展, 2003, (13)3: 248—254
- 15 Murray F, Llewellyn D, Mcfadden H, et al. Expression of the *Talaromyces flavus* glucose oxidase gene in cotton and tobacco reduces fungal infection, but is also phytotoxic. Molecular Breeding, 1999, 5: 219—232
- 16 Kachroo A, He Z, Patkar R, et al. Induction of H₂O₂ in transgenic rice leads to cell death and enhanced resistance to both bacterial and fungal pathogens. Transgenic Res, 2003, 12(5): 577—586
- 17 Lee Y H, Yoon L H, Such S C, et al. Enhanced disease resistance in transgenic cabbage and tobacco expressing a glucose oxidase gene from *Aspergillus niger*. Plant Cell Rep, 2002, 20: 857—863
- 18 Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissues cultures. Physiol Plant, 1962, 15: 473—497
- 19 Paul S, Colin B, Simon P, et al. Molecular cloning and characterization of banana fruit polyphenol oxidase. Planta, 2001, 213: 748—757
- 20 Chakrabarti A, Ganapathi T R, Mukherjee P K, et al. MSI-99, a magainin analogue, imparts enhanced disease resistance in transgenic tobacco and banana. Planta, 2003, 216: 587—596
- 21 Frison E. Going bananas. New Scientists, 2003, 1, 18: 27—29
- 22 Perez J B, Remy S, Sagi L, et al. Chemotactic movement to wound exudates and attachment of *Agrobacterium tumefaciens* to single cells and tissues. Acta Hort, 1998, 290: 463—468
- 23 Bidney D, Scelonge C, Martich J, et al. Microprojectile bombardment of plant tissues increases transformation frequency by *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Molecular Biology, 1992, 18: 301—313

“生物与环境协同演化”战略研讨会在上海召开

由国家自然科学基金委员会、复旦大学和中国地质大学共同组织的“生物与环境协同演化”第二次会议, 于2004年12月11—12日在上海召开。出席本次会议有来自全国15所科研院所和高等院校的30余位专家学者。

与会者研讨了如何从地球科学和生命科学相交叉的角度探讨“生物与环境协同演化”这一重大前沿科学主题, 并针对中国实情, 对有可能产生突破性进展的论题进行了广泛而深入的讨论。主要内容涉及地球科学和生命科学的学科交叉与有机结合、科学创新和数据定量化、极端环境与生命大爆发、生物进化、基因水平转移和基因组研究、不同尺度环境变化与生命效应、微生物、生境和控制实验、“将今论古”和“以古示今”思想、深部环境与热泉生态系、碳循环与天然气水合物等等。研讨活动着眼于地球科学与生命科学有机交叉、融合和互为所用的角度, 从而产生许多创新的科学思想和焦点论题: (1) 地史与当代极端条件下的生命与环境; (2) 地史与当代全球变化与生物多样性; (3) 微生物及其古环境效应、地微生物学; (4) 生命与地球环境协调演化的理论问题; (5) 人类起源及与环境的协同演化。

会议本着“具有原始创新潜力、属于迫切需要回答的科学问题、拥有良好的研究基础和工作条件、有以我为主开展国际合作的良好背景、能够实现有机的学科交叉与结合、有较强的科学竞争力”的衡量标准, 整合产生了若干项重要的科学论题。会议一致同意, 成立一个由若干专家学者组成的工作组, 进一步听取专家的意见和建议, 力争在短期内对所提出的科学问题进行深入归纳, 起草一个初期计划方案, 供以后系列研讨会深入讨论。会议决定2005年3月在北京召开研讨会, 对具体科学问题进行细化讨论, 并邀请国内外著名学者提出指导意见。拟定2005年6月组织一次“东方科技论坛”, 并申请在2005年下半年召开一次“香山科学会议”。

(供稿: 刘羽)