

冰核细菌在我国北方玉米上的消长动态规律

孙福在¹, 赵廷昌¹, 王佳君¹, 牟丰盛¹, 安建勇², 晋齐鸣³

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100094; 2. 山西高寒作物研究所, 山西大同 037006;
3. 吉林省农业科学院植物保护研究所, 吉林公主岭市 136100)

摘要: 研究证明, 菠萝欧文氏菌 (*Erwinia ananas*) 为我国北方玉米上优势冰核细菌种类, 占总体 INA 细菌 95% 以上。采用定量性和定期取样分离方法, 首次研究 INA 细菌在玉米上的消长动态规律。结果表明: 玉米不同生长发育阶段是影响 INA 细菌在玉米上数量分布和消长动态变化的重要因素, 以抽雄至成熟期间分布 INA 细菌数量最多, 高达 $10^7 \sim 10^8$ CFU/g, 比拔节至抽雄期高出 2~3 个数量级, 比苗期至拔节期高出 4~5 个数量级; 同时还指出, 玉米不同播期, 对 INA 细菌数量分布影响显著, 差异很大, 其中 INA 细菌分布数量消长变化, 以正常播种 (1.9×10^7 CFU/g) > 中期播种 (7.9×10^5 CFU/g) > 晚期播种 (5.0×10^4 CFU/g); 研究指出, 处于抽雄至成熟期间的玉米上分布的 INA 细菌数量最多, 因此期间 (8 月上旬至 9 月下旬), 气温逐渐降低, 昼夜温差大, 田间结露多, 加上玉米处于成熟阶段, 抗 INA 细菌能力弱, 这些因素有利于低温 (5~20℃ 范围内生长) 型 INA 细菌生长繁殖, 故使 INA 细菌分布数量最多。

关键词: 冰核细菌; 玉米; 消长动态; 霜冻

Dynamic changes of ice nucleation active bacterial population inhabiting on corn in Northern China

SUN Fu-Zai¹, ZHAO Ting-Chang¹, WANG Jia-Jun¹, MU Feng-Sheng¹, AN Jian-Yong², JIN Qi-Ming³

(1. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China; 2. Institute of Cold Crop Sciences, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Datong 037006, China; 3. Institute of Plant Protection, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(4): 785~790.

Abstract: As reported in previous research, *Erwinia ananas* was the predominant ice nucleation active (INA) bacterial species, which covered over 95% of all INA bacteria inhabiting on corn in northern China. The dynamic changes of its population were first researched in this paper.

The population of *E. ananas* inhabiting on corn in Datong and Jilin was checked periodically. The bacterial population varied greatly on different growing stages of corn. In Datong, during the period of heading to ripening, the bacterial population was most abundant with a population of 2.32×10^7 CFU/g, while during the period of elongation to heading, the population decreased to 2.85×10^5 CFU/g, and decreased further to 8.5×10^2 CFU/g during the period of seedling to elongation. In Jilin, the population fluctuations of *E. ananas* exhibited a similar pattern, having a population of 1.2×10^8 , 6.9×10^5 , and 5.25×10^3 CFU/g, respectively, for the 3 above-mentioned growing stages. This result demonstrated that growing stage of corn was an important factor influencing the population of *E. ananas* inhabiting on corns. During the period of heading to ripening, the population was at its maximum, being as high as $10^7 \sim 10^8$ CFU/g, 2~3 and 4~5 magnitude orders, respectively, higher than the period of elongation to heading and seedling to elongation. When the period of heading ripening meets the occurrence of early frost, the large population of INA bacteria will induce and worsen the frost damage to corn at -2°C to -3°C . This study will be beneficial to predicting and relieving frost damage through monitoring and controlling INA bacteria.

基金项目: 国家“十五”攻关资助项目 (2001-BA509-B15-31)

收稿日期: 2004-08-17; **修订日期:** 2004-12-25

作者简介: 孙福在 (1939~), 男, 辽宁黑山人, 研究员, 主要从事植物细菌病害和生物冰核学研究。E-mail: sunfuzai@163.com

Foundation item: National Key Technologies R&D Program of China during the 10th Five Year Plan Period (No. 2001-BA509-B15-31)

Received date: 2004-08-12; **Accepted date:** 2004-12-25

Biography: SUN Fu-Zai, Professor, mainly engaged in bacterial diseases and ice nucleation active bacteria. E-mail: sunfuzai@163.com

In Datong, three batches of corn were sowed with an interval of 30 days. The population of *E. ananas* inhabiting on corn was checked on Sept. 10th, displaying a population size of 1.9×10^7 CFU/g, 7.9×10^5 CFU/g, and 5.0×10^4 CFU/g, respectively, for the three batches. The results showed that the sowing time affected the population size. The earlier sowing is, the higher population of *E. ananas* is.

The population of *E. ananas* inhabiting on corn in Datong was about one magnitude order lower than that in Jilin. The higher altitude, stronger ultraviolet radiation and less rainfall in Datong than in Jilin might account for this result.

Key words: ice nucleation active bacteria; corn; bacterial population fluctuation; frost

文章编号:1000-0933(2005)04-0785-06 中图分类号:Q143 文献标识码:A

霜冻是一种严重的自然灾害,能够在短短的几小时内毁坏大片农作物。我国是遭受霜冻危害最严重的国家之一,平均每年霜冻面积 3400km²,最重年达 7700km²,造成农业经济损失约 10 亿美元,因此防御或控制霜冻危害是急待研究解决的问题。

自从发现冰核活性细菌以来,大量研究证明^[1~12],在自然界广泛存在着冰核细菌(Ice nucleation active bacteria 简称 INA)已知有 3 个属(*Pseudomonas*, *Erwinia*, *Xanthomonas*)20 个种或致病变种^[4]。他们可在 $-2 \sim -3^\circ\text{C}$ 诱发植物细胞间隙水结冰引起霜冻,而无 INA 细菌存在的植物,一般能耐 $-6 \sim -7^\circ\text{C}$ 的低温不发生或发生轻微霜冻,两者相差 $3 \sim 4^\circ\text{C}$,这是由于 INA 细菌产生冰蛋白冰核诱导植物体内过冷却水在较高温度下结冰所致,就此认为冰核细菌是诱发和加重植物霜冻的重要因素。这一发现使人们对霜冻的实质有了新的认识,即植物遭遇霜冻危害的轻重程度是由低温强度大小,植物抗霜能力强弱和植物体上 INA 细菌数量多少这 3 个因素决定的^[10]。因此研究用药剂、物理和生防等方法,除 INA 细菌减轻或控制植物霜冻危害是一条防霜新途径,正在加速研究,现已取得成效^[5]。

关于冰核细菌在植物体上的分布数量的消长变化与生态环境关系的研究,至今尚未见报道。本文以在我国北方(山西大同、吉林公主岭)种植的玉米为对象,采用定量定性定期分离的方法,检测冰核细菌在玉米上不同的生长发育阶段的数量分布和消长变化,并查对不同阶段的对应温度、降雨量、结露、紫外线照射强度、海拔高度和微生物种类等因素,对冰核细菌消长动态变化的影响及其互动互作关系,以期查明冰核细菌在玉米上的消长动态规律。为预测预报玉米霜冻危害程度,科学指导药剂防霜提供了科学依据;对研究和揭示冰核细菌与自然界的生态环境关系,有一定借鉴和参考价值。结果报道如下:

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 种植玉米试验地基本情况

(1)山西大同市(山西省高寒作物所试验地),位于东经 $113.20'$ 北纬 $40.6'$,海拔 1067.2m,无霜期 130~135d,初霜期 9 月 20 日,生育期为 5~9 月,年平均日照 2670.6h,年平均降水量 371.4mm。土壤为钙栗土,肥力中等,种植玉米为晋单 35 号,4 月 23 日播种。2003 年 5 月中旬至 9 月中旬玉米生长发育期总降水量为 217.0mm。

(2)吉林公主岭市(吉林省农科院试验地),位于东经 $124.48'$,北纬 $43.31'$,海拔 200.1m,无霜期 144~156d,初霜期 9 月 22 日,生育期为 5~9 月份,年平均日照 2785.3h,年平均降水量 520mm。地势平坦,黑色壤土。种植玉米为吉单 209,4 月 26 日播种。2003 年 5 月中旬至 9 月中旬玉米生长发育期总降水量为 440.4mm。

1.1.2 KBA 培养基,见文献^[11,12]

1.2 方法

1.2.1 采集标样 在山西省高寒作物所(大同)试验地及吉林省农科院植保所(公主岭)试验地采集玉米叶标样,选当地主栽品种,玉米地肥力均匀,地势平坦,管理条件一致。4 月下旬播种,5 月中旬(玉米苗为 5 叶期)开始采样,直至 9 月中旬(玉米成熟)为止,每旬采一次叶片标样(逢 10、20、30 日采集)。采取对角线取样法,每次采集 12 个标样,每点有固定编号(每次寄样点上都写上固定编号)。5 月 20 日至 6 月 10 日采样时,因玉米苗较小,正逢 3-5 叶期,每植株由上往下采集第 2、3、4 张叶片,用剪刀剪取叶片边缘 1cm 宽的叶片,作为标样,不固定植株,在定点范围内随机取样,每点采集 2g 左右边缘叶片。保持叶片干净、干燥,装入纸袋内,每点装一袋,共采 12 点(12 袋)。从 6 月 20 日起,至 9 月 20 日止,均从植株由上往下数第 3、4 张叶片剪取叶缘标样(方法同上)。

1.2.2 冰核细菌分离方法^[8,12] 将采回来的标样每标样剪取 0.2~0.5g 左右,在超净工作台上,把标样放在研钵中,加入少许灭菌石英砂,剪碎混匀,充分研磨。用 10ml 的无菌水分 3 次吸取放入无菌试管内,震荡均匀后,用小离心管依次稀释成 4 个梯度: $10\times$; $10^2\times$; $10^3\times$ 和 $10^4\times$,用加样器分别取 0.1ml 放入 KBA 平板培养基上涂抹均匀,置于 22°C 温箱培养 3d 后调查总菌落数、冰核细菌以及芽孢杆菌的数量,做记录。

1.2.3 冰核活性测定方法^[5,12] 用 Vali 小滴冻结法,用接种环挑取不同类型单菌落,分别放入装有无菌水的小离心管内,震荡

均匀后,4℃处理 5h,用定量加样器吸取菌液,滴在平底船型铝箔纸上,每滴 10μl,每处理 10 滴,重复 3 次,并设无菌水做对照。再把铝箔纸漂浮在低温水浴槽的酒精液面上固定温度测定 4min,记载各处理的冻滴数。凡是在-5℃结冰 20%以上者,即视为冰核细菌,依照其菌落形态特征,计算菌落数,并算出 1g 标样所含冰核细菌数量。

1.2.4 冰核细菌种类鉴定^[10,11] 经细菌学鉴定,在玉米上的优势冰核细菌种类为菠萝欧文氏菌(*Erwinia. ananas* 简称 *E. a*)^[7,10,11],占 95%以上。其次是少量的丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae. pvs*)等。

2 结果与分析

2.1 INA 细菌在玉米上消长动态

2.1.1 INA 细菌在大同玉米上消长动态 在山西大同种植的玉米上,从 5 月中旬(玉米苗为 5 叶期)直至 9 月中旬(玉米成熟)期间,每旬采集一次叶片标样,每次按要求采集 12 个样品,进行冰核细菌分离和数量检测,结果从图 1 和表 2 看出,冰核细菌在玉米上的数量消长动态变化与玉米生长发育阶段有关,试划为 3 个阶段。

第 1 阶段 从 5 月中旬至 6 月下旬,玉米处于苗期至拔节期,平均 INA 细菌数量为 8.5×10^2 CFU/g,波动幅度为 $0 \sim 3.3 \times 10^3$ CFU/g,带菌标样出现频率为 5%(图 1)。此间 INA 细菌从无到有,数量很少,称之少量阶段。

第 2 阶段 从 7 月上旬至 7 下旬,玉米处于拔节至抽雄期,平均 INA 细菌数量为 2.85×10^3 CFU/g,波动幅度为 $3.3 \times 10^3 \sim 7.9 \times 10^5$ CFU/g,带菌标样出现频率为 33.3%(见图 1 和表 2)。此间 INA 细菌数量呈逐渐上升趋势,总体数量为中等,称之中量阶段。

第 3 阶段 从 8 月上旬至 9 月中旬,玉米处于抽雄至成熟期,平均 INA 细菌数量高达 2.3×10^7 CFU/g,波动幅度为 $1.7 \times 10^6 \sim 7.7 \times 10^7$ CFU/g,带菌标样出现频率为 85.4%(见图 1 和表 2)。此间 INA 细菌数量大而平稳,称之为高量阶段。

2.1.2 INA 细菌在吉林玉米上的消长动态 在吉林公主岭种植的玉米上,从 5 月下旬(玉米苗为 5 叶期)直至 9 月中旬(玉米成熟)期间,每旬采集一次叶片标样,每次按要求采集 12 个样品,对其进行冰核细菌分离和数量检测。从图 2 结果看出,冰核细菌在玉米上的数量消长动态变化,与玉米生长发育阶段有关,试划为 3 个阶段。

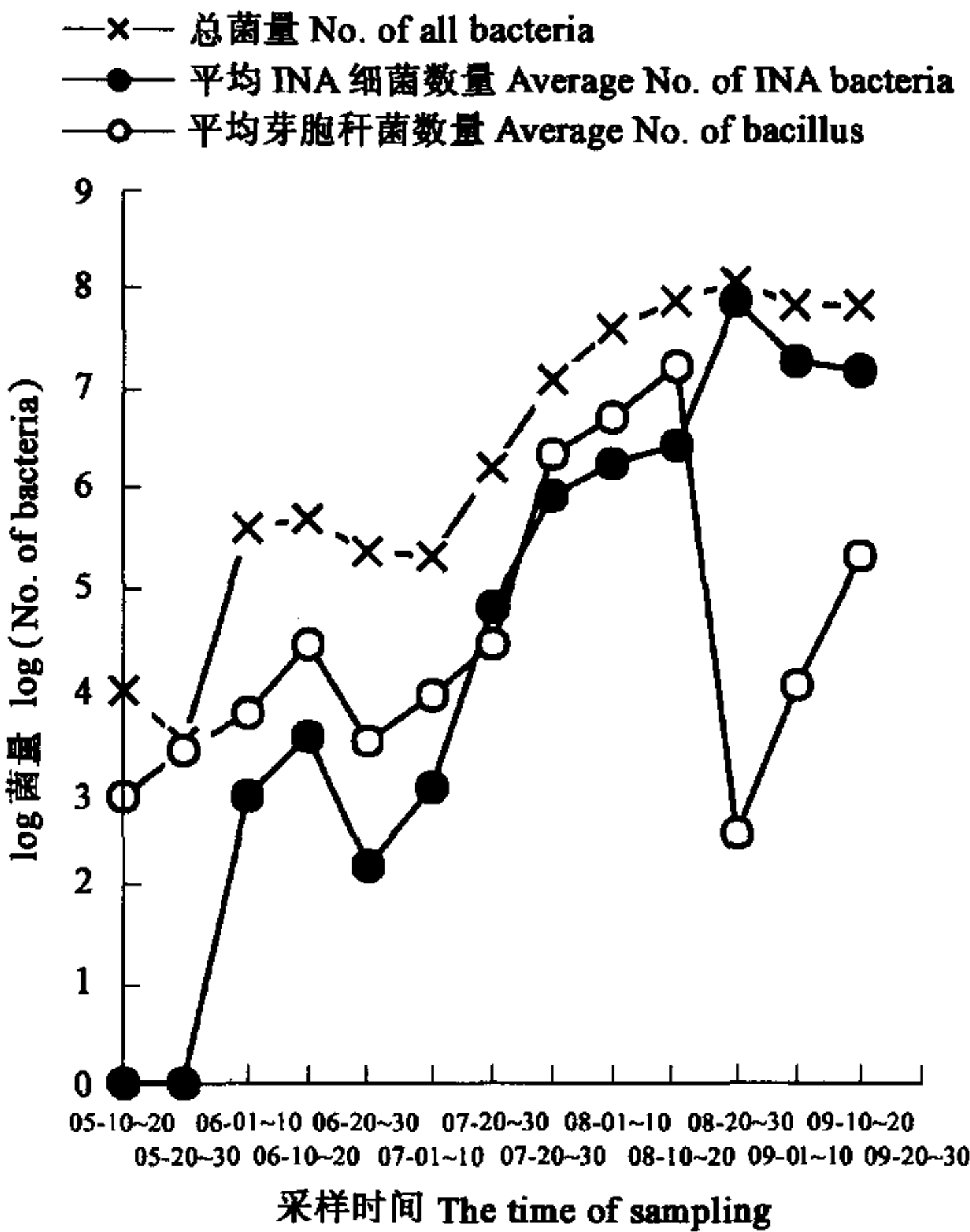


图 1 冰核细菌在玉米上消长动态规律研究(大同标样)

Fig.1 The eat and flow of INA bacteria on corns(samples from Da Tong)

表 1 冰核细菌在不同播期玉米上数量消长变化比较(大同, 9 月 10 日采集)

Table 1 The population of INA bacteria on corns of different seedtime (Datong, Sep. 10th sampling)			
播种时期(月/日) Seedtime (Month/day)	总菌量(CFU/g) No. of all bacteria	平均 INA 细菌数量(CFU/g) Average No. of INA bacteria	平均芽胞杆菌数量(CFU/g) Average No. of Bacillus
晚期播种(7/10) Jul 10 th	3.4×10^7	5.0×10^4	7.9×10^5
中期播种(5/23) May 23 rd	2.2×10^7	7.9×10^5	4.2×10^6
正常播种(4/23) Apr 23 rd	7.0×10^7	1.9×10^7	1.0×10^4

第 1 阶段 从 5 月下旬至 6 月下旬,玉米处于苗期至拔节期(营养生长期),叶片上平均 INA 细菌数量为 5.25×10^3 CFU/g,波动幅度为 $0 \sim 2.1 \times 10^4$ CFU/g,带菌标样出现频率为 6.25%(见图 2 和表 2)。此间 INA 细菌数量从无到有,数量很少,仅在 6 月下旬分离到冰核细菌,数量为 2.1×10^4 CFU/g,称之少量阶段。这里需要指出的是,因 6 月上、中旬两次采集的玉米标样,被污染霉烂,未分离到 INA 细菌,故图 2 标为“0”,实际可能会存在 $10 \sim 10^3$ CFU/g 的 INA 细菌。

第 2 阶段 从 7 月上旬至 7 下旬,玉米处于拔节至抽雄期(从营养向生殖生长转化期),平均 INA 细菌数量为 6.9×10^5 CFU/g,波动幅度为 $2.3 \times 10^4 \sim 1.3 \times 10^6$ CFU/g,带菌标样出现频率为 30.6%(见图 2 和表 2)。此间 INA 细菌呈逐渐上升趋势

势,称中量阶段。

第3阶段 从8月上旬至9月中旬,玉米处于抽雄至成熟期(生殖生长期),平均 INA 细菌数量高达 $1.2 \times 10^8 \text{CFU/g}$,波动幅度为 $1.2 \times 10^7 \text{CFU/g}$ 至 $2.4 \times 10^8 \text{CFU/g}$ 。带菌标样出现频率为 98.3%(见图 2 和表 2)。此间 INA 细菌在玉米上的数量最高,数量变化平稳,波动小,称之高量阶段。

2.2 玉米播期对冰核细菌消长动态影响

在山西大同,于同一地块,同一管理条件下,分 3 期播种玉米,正常播种(4 月 23 日),中期播种(5 月 23 日),晚期播种(7 月 10 日),于 9 月 10 日,(正常播种玉米处于成熟期),分别对不同播期玉米采集标样,一次各采 12 个样点,进行冰核细菌分离和数量检测。结果从表 1 可看出,分 3 期播种的各处理的总菌量数基本相似,相差不到一个数量级,平均在 $4.2 \times 10^7 \text{CFU/g}$,波动幅度为 $2.2 \times 10^7 \sim 7.0 \times 10^7 \text{CFU/g}$,但 3 种播期各处理玉米叶片上的平均 INA 细菌数量相差较大,即正常播种($1.9 \times 10^7 \text{CFU/g}$)>中期播种($7.9 \times 10^5 \text{CFU/g}$)>晚期播种($5.0 \times 10^4 \text{CFU/g}$),该结果说明,玉米播期不同,对冰核细菌的数量消长分布有很大影响,差异很大。

2.3 环境因子对玉米上 INA 细菌消长动态影响

由表 2 可看出,大同和吉林两地检测结果都表明,在 8 月上旬至 9 月中旬,处于抽雄至成熟期间的玉米上,分布 INA 细菌数量最多(高达 $10^7 \sim 10^8 \text{CFU/g}$),比拔节至抽雄期高出 2~3 个数量级,比苗期至拔节期高出 4~5 个数量级,为什么 INA 细菌分布数量差异这么显著,初步分析原因:一者,INA(*E. ananas*)细菌为一种低温细菌,能在 5~20℃ 范围内生长,当玉米处于抽雄至成熟期间(8/上~9/中),气温开始逐渐降低(旬均温 19~19.8℃,旬均低温为 12~14.9℃),昼夜温差大,田间结露多(露日频率高达 44%~46%),见表 3,适合其生长繁殖,却不利中温(30℃)和高温(40℃)细菌生长,如芽胞杆菌(见图 1、2),此期间,则使 INA(*E. ananas*)细菌与其它微生物生存竞争中处于优势地位。二者,*E. ananas* 细菌,不但能在玉米上附生,还兼有一定的寄生性^[10]而此时处于生殖生长阶段比营养生长阶段的玉米抗菌能力弱且营养丰富,有利于 INA 细菌生长和繁殖之故。

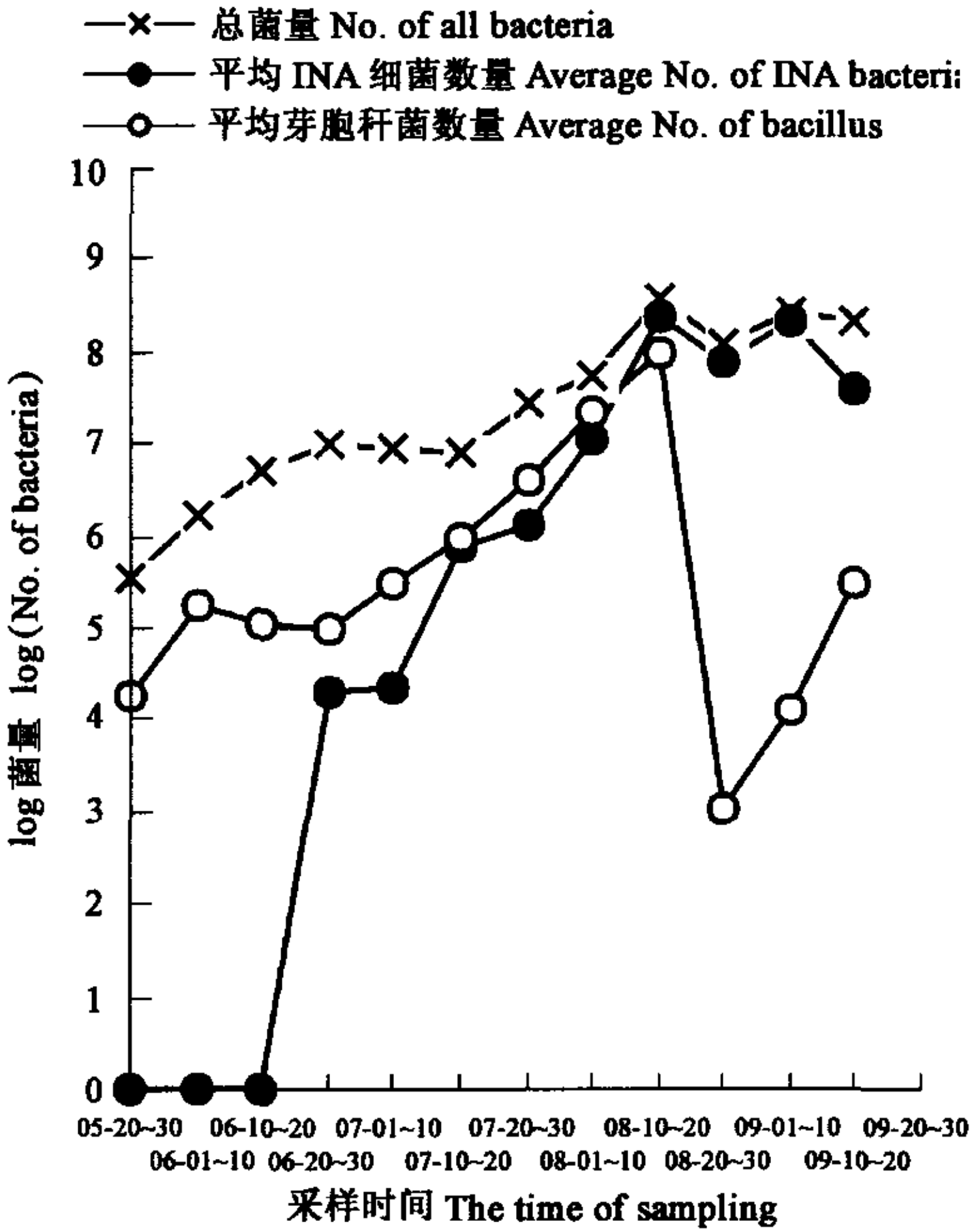


图 2 冰核细菌玉米上消长动态规律研究(吉林标样)

Fig. 2 The eat and flow of INA bacteria on corns (samples from Ji Lin)

表 2 大同和吉林的玉米不同生长发育阶段平均 INA 细菌数量及带菌标样出现频率
Table 2 The average number of INA bacteria and the frequency of samples with INA bacteria on corns of different growth stage in Da Tong and Ji Lin

地点 Position	生长发育期 Growth stages	起止时间(月/旬~月/旬) Length of stages	叶片上平均(CFU/g) Average No. of INA bacteria on leaves	带菌标样出现频率(%) Frequency of samples with INA bacteria
大同 Datong	苗期至拔节期 the period of seedling to elongation	5/中~6/下 May 11 th to Jun. 30 th	8.5×10^2	5
	拔节期至抽雄期 the period of elongation to heading	7/上~7/下 Jul. 1 st to Jul. 31 st	2.85×10^5	33. 3
	抽雄期至成熟期 the period of heading to ripening	8/上~9/中 Aug. 1 st to Sep. 20 th	2.32×10^7	85. 4
	苗期至拔节期 the period of seedling to elongation	5/中~6/下 May 11 th to Jun. 30 st	5.25×10^3	6. 25
吉林 Jilin	拔节期至抽雄期 the period of elongation to heading	7/上~7/下 Jul. 1 st to Jul. 31 st	6.9×10^5	30. 6
	抽雄期至成熟期 the period of heading to ripening	8/上~9/中 Aug. 1 st to Sep. 20 th	1.2×10^8	98. 3

3 讨论

(1)调查和研究证明^[7,10,11],菠萝欧文氏菌(*Erwinia. ananas*)为我国北方玉米上优势冰核细菌种类,占总体 INA 细菌 90% 以上,其次还有少量的草生欧文氏菌(*Erwinia herbicola*)和丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae. pvs*)。特别是在大同和吉林种

植的玉米上,分离到的 *E. ananas* 的比例更高,达 95% 以上。本文以菠萝欧文氏菌为主要对象,首次研究其在玉米上的消长动态规律。

表 3 各阶段(旬)最高、最低、平均温度及降雨量大同,吉林 (2003. 04~09)
Table 3 The AHT, ALT, AT and rainfall in each phase (10 days) in Datong, Jilin (2003. 04~09)

生长发育阶段(月/旬) Growth phases	旬平均最高(℃) AHT of each 10 days		旬平均最低 ALT of each 10 days		旬平均 AT of each 10 days		旬均降雨量(mm) Rainfall in 10 days		露日出现频率(%) Frequency of the days of dew	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
营养生长(5/中~6/下)Vegetative growth (May 11 th to Jun. 30 th)	26.50	25.09	10.57	14.57	18.55	19.83	11.62	31.2	6	12
营养向生殖生长转化(7/上~ 7/下)Turning to generative growth (Jul. 1 st to Jul. 31 st)	29.00	27.14	14.16	19.12	21.57	23.13	25.00	35.76	13	13
生殖生长(8/上~9/中)Generative growth (Aug. 1 st to Sep. 20 th)	26.30	24.67	12.00	14.96	19.01	19.80	16.80	35.46	44	46

AHT Average highest temperature; ALT Average lowest temperature; AT Average temperature; A 大同 Datong; B 吉林 Jilin

由 2.1.1 和 2.1.2 的试验结果看出,INA (*E. ananas*)细菌在大同玉米上的数量消长变化,以抽雄至成熟期(2.32×10^7 CFU/g) $>$ 拔节期至抽雄期(2.85×10^5 CFU/g) $>$ 苗期至拔节期(8.5×10^2 CFU/g);INA (*E. ananas*)细菌在吉林玉米上的数量消长变化,同样以抽雄至成熟期(1.2×10^8 CFU/g) $>$ 拔节期至抽雄期(6.9×10^5 CFU/g) $>$ 苗期至拔节期(5.25×10^3 CFU/g)。该结果表明,INA (*E. ananas*)细菌在大同和吉林玉米上的数量消长动态变化与玉米的生长发育阶段密切相关(详见表 2),即 INA 细菌分布的数量多少与带菌标样出现的频率高低,都以抽雄至成熟期(8/上~9/中) $>$ 拔节期至抽雄期(7/上~7/下) $>$ 苗期至拔节期(5/中~6/下)。因此认为玉米的不同生长发育阶段是影响 INA (*E. ananas*)细菌在玉米上数量分布与消长动态变化的重要因素。

特别是以抽雄至成熟期间分布的 INA 细菌数量最多,高达 $2.3 \times 10^7 \sim 1.2 \times 10^8$ CFU/g,比拔节期至抽雄期高出 2~3 个数量级,比苗期至拔节期高出 4~5 个数量级(见表 2),此时一旦临近初霜期(9 月 20~23 日),就会在 -2~-3℃ 诱发和加重玉米霜冻危害,造成严重损失^[4,5]。该结果为预测预报霜冻危害程度及科学指导用药剂和生防菌除冰核细菌减轻或控制玉米霜冻危害,提供了科学依据。

(2)的试验结果表明,玉米播期不同对 INA (*E. ananas*)细菌的数量分布影响显著(见表 1)。9 月 20 日采样测定 INA 细菌数量时,恰逢正常播种玉米处于抽雄期至成熟期,中期播种处于拔节期至抽雄期,晚期播种处于苗期至拔节期;其 INA 细菌分布数量多少,以正常播期(1.9×10^7 CFU/g) $>$ 中期播期(7.9×10^5 CFU/g) $>$ 晚期播期(5.0×10^4 CFU/g),该结果表明,INA 细菌数量分布多少与玉米不同播期和不同生长发育阶段密切相关。

研究结果还指出,吉林比大同玉米上 INA 细菌数量要多,接近高出一个数量级(见表 2 和图 1,2)。这可能是大同海拔(1067.2m)比吉林(200.1m)高,紫外线照射强度大,INA 细菌易被杀灭^[11,12];同时,玉米全生育期的降水量,大同(217.4mm)比吉林(440.4mm)少,与这些因素不利于 INA 细菌生长有关。再者,从 5 月中旬至 9 月中旬期间,大同平均温度为 19.14℃,吉林平均温度为 20.93℃(见表 3),而 INA 细菌适宜生长的温度为 20℃左右^[4,12],因此,认为两地温度对 INA 细菌的数量消长变化无大影响。

References:

[1] Lindow S E. The role of bacteria ice nucleation in frost injury to plant. *Ann. Rew. Phyt-opathol.* ,1983,**21**:363~383.
[2] Wolber PK. Bacterial ice nucleation. *Adv. Microb. Physiol.* ,1993,**34**:203~237.
[3] Kokichi Takahashi. Actuality on Researches on Ice Nucleation-active Bacteria and Applications. *Freeze*, 1987,**62**(718):73 ~80.
[4] Sun F Z, Zhao T C. Biological characteristics and frost-inciting mechanisms of ice nucleation aactive (INA) bacteria and the research in frost control. *Acta Ecologica Sinica*, 2003,**23**(2):336~345.
[5] Sun F Z, Zhao T C, Mu F S ,et al. Alleviation of frost damage to corm by controlling INA bacteria with competitive bacteria and chemicals. *Journal of Natural Disasters*, 2003,**12**(4):115~120.
[6] Feng Y X, He W X. *The Researches of Frost*, Meteorology Press,1996. 93~157.
[7] Sun F Z, Zhu H, He L Y, et al. Studies of the Use of Pesticide to Control Frost Injury of Maize. *Heilongjiang Scientia Agricultura Sinica*, 1991,(3):24~29.

- [8] Sun F Z. Progress on the Studies of Biological Ice Nucleation in China. *Sciencra Agricultura Sinica*, 1996, **29**(5): 62~68.
- [9] Liu J H, Tao Y F, He W X, *et al.* Studies on the role of ice nucleation active bacteria in frost injury to maize and soybean. *The Chinese Journal of Agricultural Meteorology*, 1990, **11**(1): 1~6.
- [10] Sun F Z, Zhu H, He L Y, *et al.* Identification of Ice Nucleation Active Bacteria on Plants of China. *Progress in Natural Science*, 1994, **4**(3): 449~456.
- [11] Sun F Z, Wei J F. Investigation on the Dominant Species of Ice Nuclesation Active Bacteria in China. *Acta Ecologica Sinica*, 1996, **16**(6): 618~623.
- [12] Sun F Z, Zhu H, He L Y, *et al.* Factors Affecting Ice Nucleation Activity of INA Bacteria. *Sciencra Agricultura Sinica*, 1991, **24**(3): 57~64.

参考文献:

- [3] 高桥幸吉. 冰核活性细菌の研究现状と实用化. 冷冻(日), 1987, **62**(718): 73~80.
- [4] 孙福在, 赵廷昌. 冰核细菌生物学特性及其诱发植物霜冻机理与防霜应用. 生态学报, 2003, **23**(2): 336~346.
- [5] 孙福在, 赵廷昌, 牟丰盛, 等. 生防菌和药剂防除冰核细菌防御玉米霜冻危害研究. 自然灾害学报, 2003, **12**(4): 115~120.
- [6] 冯玉香, 何维勋. 霜冻的研究. 北京: 气象出版社, 1996. 93~157.
- [7] 孙福在, 朱红, 何礼远, 等. 药剂防治玉米霜冻的初步研究. 黑龙江农业科学, 1991, (3): 24~29.
- [8] 孙福在. 我国生物冰核研究进展. 中国农业科学, 1996, **29**(5): 62~68.
- [9] 刘建华, 陶毓汾, 何维勋, 等. 冰核活性细菌与玉米和大豆霜冻关系的研究. 中国农业气象, 1990, **11**(1): 1~5.
- [10] 孙福在, 朱红, 何礼远, 等. 我国植物上冰核细菌种类鉴定. 自然科学进展, 1994, **4**(3): 449~456.
- [11] 孙福在, 韦建福. 我国冰核活性细菌的优势种类调查与研究. 生态学报, 1996, **16**(6): 618~623.
- [12] 孙福在, 朱红, 何礼远. 影响冰核细菌成冰活性的因素研究. 中国农业科学, 1991, **24**(3): 57~64.