

618-622

766(4)

第16卷第6期

生态学报

Vol. 16, No. 6

1996年12月

ACTA ECOLOGICA SINICA

Dec., 1996

我国冰核活性细菌的优势 种类调查与研究

孙福在 韦建福 朱红

(中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京, 100094)

A

摘要 1986~1994年, 从国内17个省、市、自治区的68种植物上分离到了250株冰核活性细菌, 经鉴定分别属于3个属的17个种或致病变种, 其中出现最多的是菠萝欧文氏菌(*Erwinia ananas*), 共133株, 占总数的53.2%, 其次是丁香假单胞菌群(*P. syringae* pvs.), 共70株, 占28%, 其它种类冰核活性细菌共47株, 仅占18.8%。因此, 我国冰核活性细菌的优势菌种是*E. ananas*, 其次是*P. syringae* pvs., 在低纬度的南方地区中*E. ananas*的优势尤其明显, 而在纬度较高的北京地区中则以假单胞菌类稍占优势, 黄单胞菌属的INA细菌出现频率少, 一般出现在冬季较为寒冷的地区中的禾本科植物上。

细菌

关键词: 冰核活性细菌, 优势菌种。

INVESTIGATION ON THE DOMINANT SPECIES OF ICE NUCLEATION ACTIVE BACTERIA IN CHINA

Sun Fuzai Wei Jianfu Zhu Hong

(State Key Laboratory for Biological Plant Diseases and Insect Pests,
Institute of Plant Protection, CAAS, Beijing, 100094, China)

Abstract 250 strains of INA bacteria were isolated from 68 species of plants in 17 provinces, cities and autonomous regions in China during 1986 to 1994. The identification results show that they belonged to 17 species (or pathovars) of 3 genera respectively. Among them, 133 strains are *Erwinia ananas*, accounting for 53.2% of total amount. The next group is *Pseudomonas syringae* pvs. The total is 70 strains, accounting for 28% of total amount. The other species of INA bacteria have 47 strains, accounting for only 18.8% of total amount. Thus, the dominant species of INA bacteria in China is *E. ananas*, and then *P. syringae* pvs. group. The dominance of *E. ananas* was more obvious in low latitude of southern areas. In high latitude of northern areas such as Beijing, *Pseudomonas* group was of a little dominance. INA bacteria of genera *Xanthomonas* were found mostly on family Gramineae plants in areas where the weather was more cold.

Key words: ice nucleation, active bacteria, dominant species.

* 国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1994-12-16, 修改稿收到日期: 1995-06-01。

霜冻是一种严重的自然灾害,又称之为静态灾害,它能够在一夜之间短短的几个小时内毁掉大片农作物,被认为是温带地区作物产量的主要限制因素。因此也有人称之为世界上最具有破坏性的非生物病害^[1]。我国平均每年霜冻面积约 34 万 km²,最重年份达 77 万 km²,造成农作物经济损失每年约 50 多亿元。防御霜冻是农业生产上亟待解决的课题。

国内外的研究证明,冰核活性细菌(ice nucleation active bacteria,简称 INA 细菌)是破坏植物的过冷却状态,诱发和加重霜冻危害的重要因素^[1~6]。因此,防除 INA 细菌可以减轻和控制霜冻害^[4,7~10]。

为了探明我国 INA 细菌的种类和分布,明确我国冰核活性细菌的优势种类,以便有目的地筛选除菌防霜药剂尤其是筛选拮抗生防菌,并从中筛选出冰核活性强的 INA 细菌菌株供人工降雨降雪制冰,食品冷冻保藏及促冻杀虫等开发应用研究,作者经过近 9 a 的研究,已从国内 17 个省、市、自治区的 68 种植物上分离到了 250 株 INA 细菌,并作了鉴定,大部分菌株的鉴定已作了阶段性的研究报道^[11~13]。现将调查和研究结果汇总整理如下。

1 材料和方法

1.1 标本来源 从黑龙江、吉林、内蒙古、新疆、辽宁、北京、山西、山东、河南、江苏、上海、西藏、四川、湖北、福建、云南、广西等 17 个省、市、自治区采集或征集到 68 件植物霜冻害标本(见表 1)。

1.2 分离 采用平板稀释分离法,培养基为 NAG 或 KB。

1.3 冰核活性的测定 采用由 Vali 研制使用^[1,2],后又由 Lindow 改进的小液滴冻结法^[14],进行冰核活性的测定。即将 21~24℃下生长在 KB 培养基上 24 h 后的培养物配制成浓度为 10⁵ cells/ml 的细菌悬浮液,用微量移液器滴加在-5℃的测试表面上。每滴 10 μl,每个菌株滴 10 滴,重复一次,整齐排列成二排,以无菌蒸馏水作对照。在 30 s 内每个重复如有 2 滴以上的小液滴冻结成冰,即可初步认为该菌株在-5℃时具有冰核活性。纯化后再重测一次。

1.4 生理生化鉴定 生理生化鉴定主要参考 N. W. Schaad 编著的《植物病原细菌的鉴定实验指南》第二版(Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 2nd Edition),及《伯杰氏系统细菌学手册》(Bergey's Manual of Systematic Bacteriology)等文献中的方法进行。

2 结果与分析

2.1 我国 INA 细菌的种类和分布 本研究分离到的 250 株冰核活性细菌,经鉴定分别属于 3 个属的 17 个种或致病变种^[11,15]。采样范围包括华东、华南、华北、华中、东北、西南、西北,分离结果足以代表我国 INA 细菌的基本情况。现将上述结果归纳整理列于表 1。

由表 1 可见,我国 INA 细菌的优势种类是菠萝欧文氏菌(*E. ananrus*),占 53.2%,其次是丁香假单胞菌群(*P. syringae* pvs.,包括 pv. *lachrymans*, pv. *pisi*, pv. *mori*, pv. *sesami*, pv. *syringae* 及未定致病变种),占 28%,其余种类的 INA 细菌仅占 18.8%。但冰核活性以假单胞菌为高。

11 韦建福、云南省冰核活性细菌的鉴定、种类分布及防霜新技术研究,云南农业大学硕士研究生毕业论文,昆明,云南农业大学,1994,1~76

表 1 我国 INA 细菌的种类及分布

Table 1 The species of INA bacteria and their distribution in China

种 类 Species	分离植物(采集地点及菌株数) Isolated from (collected locations and number of strain)
A	马铃薯(山西 1)猕猴桃(四川 1)
B	马唐草(北京 1)艾(湖北 1)菠萝(广西 1)枇杷(广西 1)葡萄(上海 1) 芹菜(云南 1)苋菜(北京 1)苦瓜(北京 1)马铃薯(山西 2)肥猪苗(湖北 1)番木瓜(广西 1)紫丁香 (北京 1)酒药花(云南 1)小叶黄杨(北京 1)葱(云南 2)木薯(广西 2)甘蔗(广西 2)甘蓝(云南 2) 韭菜(云南 2)莴苣(云南 2)洋葱(云南 2)大豆(辽宁 2)籽粒苋(云南 2)青菜(云南 3)紫茎泽兰 (云南 2)桃(北京 1)油菜(云南 3)稗草(北京 3)啤酒大麦(云南 2)大青树(云南 3)蚕豆(云南 10)小麦(云南 14)蕃茄(福建 1, 云南 1)草莓(北京 1, 上海 1)菠菜(上海 1, 云南 2)大蒜(河南 1, 云南 3)芭蕉(四川 1, 广西 4)豌豆(四川 1, 云南 6)牛皮菜(四川 1, 云南 1)美人蕉(北京 1, 四川 1, 云南 2)玉米(湖北 1, 山西 2, 辽宁 2, 北京 4, 黑龙江 6)香蕉(北京市场 1, 云南 1, 广西 8)水稻 (四川 1, 北京 2, 辽宁 2)
C	甘薯(广西 1)香蕉(广西 1)马铃薯(山西 1)蚕豆(云南 2)
D	芭蕉(广西 1)
E	黄瓜(北京 1)芭蕉(广西 1)蕃茄(北京 3)
F	黄瓜(北京 1)甜瓜(新疆 1)甘蔗(广西 1)凝冰草(湖北 1)花椰菜(北京 1)
G	大蒜(河南 1)香菜(云南 1)花椰菜(北京 1)蕃茄(北京 2)茴香(云南 3)芹菜(云南 2)
H	小麦(云南 2)黄瓜(辽宁 1, 内蒙古 2, 北京 5)
I	桑树(辽宁 2, 江苏 2, 山东 3)
J	豌豆(吉林 1, 四川 1)大豆(吉林 1, 北京 1)
K	芝麻(吉林 1, 内蒙古 1)
L	大麦(云南 1)烟草(云南 1)桑树(辽宁 1)杨树(北京 1)大头菜(云南 1)紫云英(云南 1)香蕉(广 西 2)芹菜(云南 2)香菜(云南 2)蚕豆(云南 3)蕃茄(北京 3)茴香(云南 3)豌豆(云南 5)黄瓜(北 京 5)白菜(内蒙古 6)小麦(北京 2, 云南 3)
M	白菜(内蒙古 1)黄瓜(北京 1)芹菜(北京 1)玉米(北京 1)苹果(北京 1)
N	黄瓜(北京 1)蕃茄(北京 1)香蕉(广西 1)丛树(湖北 1)白菜(北京 1, 内蒙古 1)
O	冰草(内蒙古 1)沙生冰草(内蒙古 1)西伯利亚冰草(内蒙古 1)野黑麦(新疆 1)中间偃麦(内蒙古 1)无芒雀麦(内蒙古 1)新疆无芒雀麦(内蒙古 1)
P	冬小麦(内蒙古 1)春小麦(山东 1, 新疆 1, 西藏 1)
Q	麦(内蒙古 1)加拿大大麦(北京 1)

注: Note: A. *E. amylovora*, B. *E. ananas*, C. *E. herbicola*, D. *E. herbicola* pvs., E. *P. fluorescens* biovar II, F. *P. marginalis*, G. *P. viridiflava*, H. *P. s. pv. lachrymans*, I. *P. s. pv. mori*, J. *P. s. pv. pisi*, K. *P. s. pv. sesami*, L. *P. s. pv. syringae*, M. *P. s. pvs.*, N. *P. sp.* O. *X. c. pv. cerealis*, P. *X. c. pv. underlosa* Q. *X. c. pv. hordei*

表 2 各类 INA 细菌的比例

Table 2 The ratio of various type of INA bacteria

种类* Species	A	B	C	D	E	F	G	H~M	N	O	P	Q
菌株数 Number of strains	2	133	5	1	5	5	10	70	6	7	4	2
比率 Percentage (%)	0.8	53.2	2	0.4	2	2	4	28	2.4	2.8	1.6	0.8

* 注: 字母所代表的菌种同表 1. Note: For symbols see table 1.

2.2 我国一些省、市、自治区 INA 细菌的优势种类概况 表 3~表 5 分别列出广西、北京、云南 INA 的细菌的优势种类。

表 3 广西 INA 细菌的优势种类

Table 3 The dominant species of INA bacteria in Guangxi

种类 * Species	B	C	D	E	F	L	N	合计 Total
菌株数 Number of strains	19	2	1	1	1	2	1	27
比率 Percentage (%)	70.4	7.4	3.7	3.7	3.7	7.4	3.7	

表 4 北京 INA 细菌的优势种类

Table 4 The dominant species of INA bacteria in Beijing

种类 * Species	B	E	F	G	H	J	L	M	N	合计 Total
菌株数 Number of strains	18	4	2	3	5	1	11	4	3	51
比率 Percentage (%)	35.5	7.8	3.9	5.9			21			

表 5 云南 INA 细菌的优势种类

Table 5 The dominant species of INA bacteria in Yunnan

种类 * Species	B	C	G	H	L	合计 Total
菌株数 Number of strains	67	2	6	2	22	99
比率 Percentage (%)	67.7	2.0	6.1		24.2	

* 表注: 同表 1。 Note: For symbols see table 1.

由表 3~表 5 可见, 不同地区 INA 细菌的种类构成及其比率是不尽相同的。在纬度较高的温带地区如北京市, INA 细菌以假单胞菌类为多, *E. ananas* 的群体分布优势稍弱于丁香假单胞菌类。而在纬度较低的广西热带亚热带地区及海拔较高的滇中地区(海拔高度约 1900 m), *E. ananas* 的群体分布优势极为显著。这一结果对今后研究药剂防霜

和筛选利用 INA 细菌的拮抗菌作为防霜生防菌具有重要意义。

2.3 一些植物上 INA 细菌的分布

同一株植物上可同时附生着两种或两种以上的 INA 细菌, 大多数植物如水稻、蚕豆、玉米、香蕉类(包括芭蕉)、小麦等, 主要分布着 *E. ananas*, 豌豆上欧氏杆菌类和假单胞菌类的出现频率相当, 在蕃茄上则以假单胞菌稍多, 而在白菜和黄瓜上, 丁香假单胞菌类占绝对优势。在松柏等针叶树上, 至今尚未分离到 INA 细菌^[1,6,17]。

从分离季节上看, 秋冬霜冻季节更易于分离 INA 细菌, 而炎热盛夏季节难以分离到。

表 6 不同植物上的 INA 细菌

Table 6 Distribution of INA bacteria on diffeent plants

种类 * Species	B	C	D	E	F	G	H~M	N	P	合计 Total
水稻 Rice	5									5
蚕豆 Broad bean	10	2					3			15
玉米 Corn	15						1			16
香蕉类 Bananas	15	1	1	1			2	1		21
小麦 Wheat	14						7		4	25
豌豆 Pea	7						7			14
蕃茄 Tomato	2			3		2	3	1		11
白菜 Cabbage							7	2		9
黄瓜 Cucumber				1	1		14			17

* 注: 字母所代表的菌种同表 1。 Note: For symbols see table 1.

3 讨论

Xanthomonas 属的 INA 细菌仅发现于北京、内蒙古、新疆、西藏等冬季较为寒冷地带中的禾本科植物上。INA 细菌的种类构成及其比率明显地受到地理、地域环境、季节气候条件和寄主植物的影响。孙福在等的研究表明, 欧氏杆菌类抗紫外线的能力较假单胞菌类强^[13], 这很可能是影响 INA 细菌分布的一个重要因素。因为冬季的紫外线较少, 低纬度的广西和高海拔的云南, 紫外线照射显然较高纬度的北京强, 这与本次调查结果相符合。

国外报道中, *E. herbicola* 是最常见的 INA 细菌, 也是植物上最为普遍的附生菌。在这次较大规模的调查分离中, 该菌极为少见。分离到的 250 株 INA 细菌中, 只有 5 株为 *E. herbicola*, 仅占 2%, 表明 *E. herbicola* 在我国的分布极少。我国植物上最为普遍广泛分布的附生菌是菠萝欧文氏菌 (*E. ananas*), 这一结果过去未见报道^[14,15]。该菌主要引起菠萝褐腐病, 在其它植物上一般不致病。

参 考 文 献

- 1 Lindow S E. The role of bacteria ice nucleation in frost injury to plant. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 1983. **21**: 363~384
- 2 刘建华等. 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): 1~7
- 3 Lindow S E. *Erwinia herbicola*: a bacteria ice nucleus active in increasing frost injury to corn. *Phytopathology*, 1978. **68**: 523~527
- 4 Lindow S E. *et al.* Relationship between ice nucleation frequency of bacteria and frost injury. *Plant Physiol.*, 1982. **70**: 1090~1093
- 5 Lindow S E. *et al.* Bacteria ice nucleation: a factor in frost injury to plants. *Plant Physiol.*, 1982. **70**: 1084~1089
- 6 Lindow S E. methods of preventing frost injury through control of epiphytic ice nucleation active bacteria. *Plant Dis.*, 1983. **67**: 327~333
- 7 Lindow S E *et al.* Control of frost damage to plants in the field with bacteria ice nucleation inhibitors. *Phytopathol.*, 1978. **12**: 138
- 8 Lindow S E. Frost damage to potato reduced by bacterial antagonistic to ice nucleation active bacteria. *Phytopathology*, 1979. **69**: 1036
- 9 Lindow S E. Frost damage to pear reduced by antagonistic bacteria, bactericides, and ice nucleation inhibitors. *Phytopathology*, 1981. **71**: 237
- 10 Lindow S E. Integrated control of frost injury and fire blight of pear with antagonistic epiphytic bacteria. *Phytopathology*, 1982. **72**: 946
- 11 孙福在等. 我国植物上冰核活性细菌种类鉴定. *自然科学进展*, 1994. (4): 449~456
- 12 Vali G. Quantitative evaluation of experimental results on the heterogeneous freezing nucleation of supercooled liquids. *J. Atmos. Sci.*, 1971. **28**: 402~409
- 13 孙福在等. 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
- 14 方中达等. 中国植物病原细菌名录. *南京农业大学学报*, 1992. **15**(4): 1~6
- 15 赵友福等. 植物病原细菌简明手册. 北京: 农业部植物检疫实验所, 1992. 1~261
- 16 孙福在等. 我国冰核活性细菌种类及其分布的初步研究. *中国农业科学*, 1989. **22**(3): 93~94
- 17 孙福在等. 冰核活性细菌与植物霜冻的研究概况. *植物保护*, 1989. **15**(4): 41~43