

云南植物上冰核活性细菌鉴定

韦建福 孙福在

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

张世光 陈海如 喻盛甫

(云南农业大学 云南省植物病理重点实验室, 昆明 650201)

摘要 从云南植物上分离到 92 株冰核活性细菌, 并进行了鉴定。其中菠萝欧文氏菌 61 株, 占 66.3%; 草生欧文氏菌 2 株, 占 2.2%; 丁香假单胞菌 21 株, 占 22.8%; 黄瓜角斑病菌 2 株, 占 2.2%; 菜豆荚斑假单胞菌 6 株, 占 6.5%。云南省冰核活性细菌的优势种类是菠萝欧文氏菌, 其次是丁香假单胞菌类。

关键词 冰核活性细菌, 鉴定, 优势菌种

云南省是霜冻害的重灾区, 全省除平均每年都有 18 县、市范围大小和程度不同的霜冻害外, 平均 3 年就有一次大的霜冻害。在云南省是仅次于干旱的主要自然灾害。例如 1986 年 2 月 28 日发生的霜冻, 全省小春粮食总产由预测的 14 亿 kg 降低到 7 亿 kg, 霜冻害是影响农作物高产稳产的限制因素之一。

国内外研究证明, 冰核活性细菌 (简称 INA 细菌) 是破坏植物的过冷却状态, 诱发和加重植物霜冻危害的重要因素^[1, 3, 9~12]。因此, 防除 INA 细菌可以减轻和控制霜冻害^[4, 6~9]。为明确云南植物上 INA 细菌的种类分布, 以便找出其优势菌种供除菌防霜药剂尤其是拮抗生防菌的筛选研究, 我们于 1992~1994 年从云南省分离到了 92 株 INA 细菌, 现将分离鉴定结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 标本来源

从昆明黑龙潭、嵩明、宜良汤池、澄江、大理喜洲、陆良四河、陆良大沟、通海、双哨、邱北、宣威、玉溪大营街等 12 个地方采集或征集到下列 27 种植物霜冻害标本: 洋葱 (*Allium cepa*), 葱 (*A. fistulosum*), 大蒜 (*A. sativum*), 韭菜 (*A. tuberosum*), 籽粒苋 (*Amaranthus* sp.), 芹菜 (*Apium graveolens*), 紫云英 (*Astragalus siricus*), 牛皮菜 (*Beta vulgaris*), 油菜 (*Brassica campestris*), 甘蓝 (*Brassica caulorapa*), 青菜 (*B. chinensis*), 大头菜 (*B. napobrassica*), 美人

国家自然科学基金和云南省教委应用基础科学基金的资助内容之一

1994-12-22 收稿

蕉 (*Canna indica*), 香菜 (*Coriandrium sativum*), 紫茎泽兰 (*Eupatorium adenophorum*), 大青树 (*Ficus hookeri*), 茴香 (*Foeniculum vulgare*), 大麦 (*Hordeum vulgare*), 啤酒大麦 (*H. vulgare* var.), 莴苣 (*Lactuca sativa*), 香蕉 (*Musa nana*), 烟草 (*Nicotiana tabacum*), 豌豆 (*Pisum sativum*), 菠菜 (*Spinacia oleracea*), 小麦 (*Triticum aestivum*), 蚕豆 (*Vicia faba*), 酒药花。

1.2 分离

采用平板稀释分离培养法, 培养基为 KB。

1.3 冰核活性的测定

采用 Lindow 改进的 Vali 小液滴冻结法^[3, 13]。

1.4 生理生化试验鉴定

生理生化特性的鉴定主要参考文献^[14~17]等进行鉴定和分类。

2 结果与分析

2.1 属的鉴定

1~63 号菌株在 YDC 和 NA 培养基上均为黄色, 兼性厌氧葡萄糖发酵, 氧化酶阴性, 过氧化氢酶阳性, 已测定的菌株均能在 MS 培养基上生长, KB 上无荧光。短杆, 周生鞭毛 4 根以上, 革兰氏反应阴性, 氢氧化钾溶解试验阳性。据此, 确定这 63 个菌株为 *Erwinia* 属。

64~92 号共 29 个菌株, 在 YDC 培养基上黄色, 过氧化氢酶阳性, 葡萄糖不发酵产酸。杆状, 极生鞭毛 1~7 根, 革兰氏反应阴性, 氢氧化钾溶解试验阳性。因此, 确定这 29 个菌株为 *Pseudomonas* 属。

表 1 *Erwinia* 属中种的鉴定

项 目	<i>E.a.</i> 1~61 号	<i>E.h.</i> 62~63 号	项 目	<i>E.a.</i> 1~61 号	<i>E.h.</i> 62~63 号
运动性	+	+	5%NaCl 生长	+	+
生长因子	-	-	从有机化合物产酸		
粉红色素	-	-	D-果糖	-	-
蓝色色素	-	-	葡萄糖	+	+
黄色色素	+	+	半乳糖	+	+
粘液状生长	+	+	蔗糖	+	+
YDC 上黄色	+	+	α -甲基葡萄糖苷 *	-	.
MS 上生长 *	+		蜜二糖 *	+	
烟草过敏 *	V	-	肌醇	+	-
马铃薯腐败	-	-	淀粉	+	+
氧化酶	-	-	麦芽糖	+	+
过氧化氢酶	+	+	L-阿拉伯糖	+	+
36℃ 生长	+	+	山梨醇	+	+
半胱氨酸产 H ₂ S	+	+, St	甘露糖	+	+
蔗糖产还原物	+	+	甘露醇	+	+
尿素酶	-	-	纤维二糖	+	-
D-葡萄糖产气	-	-	鼠李糖	V	+
酪素水解	-, W	-	七叶灵	V	+
明胶液化	+	+	水杨素	+	+
吡噪试验	+	-	木糖	+	+
硝酸盐还原	-	+	海藻糖	+	+
葡萄糖发酵	+, F	+, F	甘油	+	-

注: +: 阳性, -: 阴性, V: 菌株间有差异, W: 弱反应, St: 强反应, F: 发酵型, *: 只测定了部分菌株

2.2 *Erwinia* 属中种的鉴定

以 PDDCC 模式菌株 1850(*E. ananas*), 5703(*E. chrysanthemi*) 主对照, 鉴定结果见表 1。

2.3 *Pseudomonas* 属中种的鉴定

以 PDDCC 模式菌株 7852(*P.s.* pv. *mori*), 3988(*P.s.* pv. *lachrymans*), 2844(*P.s.* pv. *tomato*) 为对照, 鉴定结果见表 2。

表 2 *Pseudomonas* 属中种的鉴定

项 目	<i>P.v.</i> 64~69 号	<i>P.s.</i> 70~92 号	项 目	<i>P.v.</i> 64~69 号	<i>P.s.</i> 70~92 号
运动性	+	+	甘露醇	+	+
鞭毛数	>1	>1	苯甲酸盐	-	-
脓青素	-	-	纤维二糖	-	-
类胡萝卜素	-	-	山梨醇	+	+
YDC 上黄色	-, W	-	海藻糖	-	-
YDC 上蓝色	V	-	蔗糖	-	+
41℃ 生长	-	-	L-阿拉伯糖	+	+
KB 上产荧光	+	+	葡萄糖	+	+
过氧化氢酶	+	+	D-木糖	+	+
果聚糖产生	-	+	甘油	+	+
氧化酶	-	-	柠檬酸盐	W	W
马铃薯腐败	+	-	D-半乳糖	+	+
精氨酸双水解酶	-	-	D-果糖	+	+
烟草过敏	+	+	丙二酸盐	+	+
反硝化	-	-	α -酮戊二酸	+	+
明胶水解	+	+	L-丙氨酸	+	+
淀粉水解	-	-	L-鼠李糖	-	-
吐温 80 水解	-	-	天冬酰胺	+	+
葡萄糖发酵类型	O	O	L-精氨酸	+	+
生长利用			邻氨基苯甲酸	-	-
甘露糖	+	+	高丝氨酸	-	-

注: +: 阳性, -: 阴性, W: 弱反应, O: 氧化型, V: 菌株间有差异

表 3 云南植物上各种 INA 细菌的种类及比率

种类	A	B	C	D&E	合计
菌株数	61	2	6	23	92
比率(%)	66.3	2.2	6.5	25	

注: A: *E. ananas*, B: *E. herbicola*, C: *P. veridiflava*, D: *P.s.* pv. *syringae*, E: *P.s.* pv. *lachrymans*

2.4 云南植物上冰核活性细菌种类与分布

从云南省东部的陆良县至西部的大理, 南部到通海, 至东北部的宣威等 12 个县、市的 27 种植物上, 共分离到了 92 株 INA 细菌, 说明云南省植物上广泛存在着冰核活性细菌。从同一个采样地的不同植物上, 同一种植物的不同采样地, 以及同一种植物同一份样品中均分离到

了不同种类的 INA 细菌, 表明 INA 细菌的寄主情况较为复杂。

表 3 可见, 云南植物上 INA 细菌的优势种类是菠萝欧文氏菌(*E. ananas*), 占 66.3%, 其次是丁香假单胞菌(*P. syringae* pvs., 包括 pv. *syringae* 和 pv. *lachrymans*), 占 25%, 两者合计占 91.3%。此结果与孙福在等的报道一致, 但此二优势菌种的比率却高出许多, 而且菠萝欧文氏菌的比率也显著高于丁香假单胞菌。因此对于云南省这样一个地理地形气候条件复杂多变的省份, INA 细菌的分布有其自身特点。分离结果还发现, 同一株植物上可同时生长着两种或两种以上的 INA 细菌。

参 考 文 献

- [1] 刘建华,陶毓汾,何维勋等. 中国农业气象, 1990, 11(1): 1~6
- [2] 孙福在,朱红,何礼远等. 自然科学进展, 1994, 4(4): 449~456.
- [3] Lindow S E. Phytopathol., 1978, 68: 523~527.
- [4] Lindow S E. Arny D C. Barchet W R *et al.* Phytopathol., 1978, 12: 138.
- [5] Lindow S E. Arny D C. Barchet W R *et al.* Phytopathol., 1978, 12: 138.
- [6] Lindow S E. Phytopathol., 1979, 69: 1036.
- [7] Lindow S E. Phytopathol., 1981, 71: 237.
- [8] Lindow S E. Phytopathol., 1982, 72: 946.
- [9] Lindow S E. Hirano S S. Barchet W R *et al.* Plant Physiol., 1982, 70: 1090~1093.
- [10] Lindow S E. Arny D C. Upper C D. Plant Physiol., 1982, 70: 1084~1089.
- [11] Lindow S E. Plant Dis., 1983, 67: 327~333.
- [12] Lindow S E. Ann. Rev. Phytopathol., 1983, 21: 363~384.
- [13] Vali G J. Atmos. Sci., 1971, 28: 402~409.
- [14] Fahy, P C. Persley G J. Plant Bacterial Diseases, A Diagnostic Guide. Academic Press. Australia. 1983, 1~374.
- [15] Krieg N R. Hold J G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 1. Baltimore, MD: Williams and Wilkins. 1984. 140~476.
- [16] Schaad N W. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 2nd ed. St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society, 1988. 37~80.
- [17] Starr M P. Phytopathogenic Bacteria. New York: Springer-Verlag. 1982. 20~132.

IDENTIFICATION OF ICE NUCLEATION ACTIVE BACTERIA ON PLANTS IN YUNNAN PROVINCE

Wei Jianfu Sun Fuzai

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

Zhang Shiguang Chen Hairu Yu Shengfu

(Yunnan Provincial Key Laboratory for Plant Pathology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)

Abstract 92 strains of ice nucleation active bacteria on plants in Yunnan province, were isolated and identified. Among them, 61 strains are *E. ananas*, make 66.3% of total amount, 2 strains are *E. herbicola*, make 2.2% of total amount. The other species include *P.s.* pv. *syringae*, *P.s.* pv. *lachrymans*, and *P. veridiflava*, have 21, 2, and 6 strains respectively, which make 22.8%, 2.2% and 6.5% of total amount respectively. The result indicates that the dominant species of ice nucleation active bacteria in Yunnan province is *E. ananas*, and then *P. syringae* pvs. group.

Key words Ice nucleation active bacteria, Identification, Dominant species